



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE DO PARANÁ

CAMPUS LUIZ MENEGHEL

CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

MATHEUS EDUARDO LEME

**AÇÃO *in vitro* DO EXTRATO DO BOTÃO FLORAL DA BANANEIRA (*Musa*
spp.) SOBRE NEMATÓDEOS GASTRINTESTINAIS DE OVINOS**

BANDEIRANTES, PR, BRASIL

2018

MATHEUS EDUARDO LEME

**AÇÃO *in vitro* DO EXTRATO DO BOTÃO FLORAL DA BANANEIRA (*Musa*
spp.) SOBRE NEMATÓDEOS GASTRINTESTINAIS DE OVINOS**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós Graduação em Agronomia, da
Universidade Estadual do Norte do
Paraná, *Campus* Luiz Meneghel.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Augusto
Alves da Silva

Coorientadora: Profa. Pós-Doc. Erika
Cosendey Toledo de Mello Peixoto

BANDEIRANTES, PR, BRASIL

2018

**Ficha catalográfica elaborada pelo autor, através do
Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UENP**

L551a Leme, Matheus Eduardo
Ação *in vitro* do extrato do botão floral da
bananeira (*Musa spp.*) sobre nematódeos
gastrintestinais de ovinos / Matheus Eduardo Leme;
orientador Marcos Augusto Alves da Silva; co
orientador Érika Cosendey Toledo de Mello Peixoto -
Bandeirantes, 2018.
39 p.

Agronomia) - Universidade Estadual do Norte do
Paraná, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós
Graduação em Agronomia, 2018.

1. Agroecologia. 2. Banana. 3. Verminose. 4.
Ovinocultura. 5. Taninos. I. Silva, Marcos Augusto
Alves da, orient. II. Peixoto, Érika Cosendey
Toledo de Mello, co-orient. III. Título.

CB410.8

MATHEUS EDUARDO LEME

**AÇÃO *in vitro* DO EXTRATO DO BOTÃO FLORAL DA BANANEIRA (*Musa*
spp.) SOBRE NEMATÓDEOS GASTRINTESTINAIS DE OVINOS**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós Graduação em Agronomia, da
Universidade Estadual do Norte do
Paraná, *Campus* Luiz Meneghel.

COMISSÃO EXAMINADORA:

| | |
|--|------|
| Prof. Dr. Marcos Augusto Alves da Silva | UENP |
| Profa. Dra. Luciane Holsback Silveira Ferttonani | UENP |
| Pesquisador Dr. Eidi Yoshihara | APTA |

Prof. Dr. Marcos Augusto Alves da Silva
Universidade Estadual do Norte do
Paraná, *Campus* Luiz Meneghel

DEDICATÓRIA

Aos meus familiares, em especial meus pais
Edson e Natalina, que sempre me apoiaram
em todos os momentos da minha vida

Agradeço em primeiro lugar à minha família porque sem eles nada disso seria possível.

À minha namorada Vivian Tiemi por todo apoio incondicional e paciência que teve comigo durante o período do mestrado.

Ao meu orientador Prof. Dr. Marcos Augusto Alves Da Silva que me ensinou como lidar com situações adversas sem perder o controle e a confiança no trabalho, uma pessoa que admiro muito.

À minha coorientadora Profa. Dra. Erika Cosendey Toledo de Mello Peixoto no qual sem ela nada disso seria possível, abriu portas jamais imagináveis para mim, sou muito grato a senhora.

Aos meus colegas do Núcleo de Ensino, Extensão e Pesquisa em Agroecologia, Sustentabilidade e Produção Orgânica (NEPASP) por toda a parceria e ajuda na realização dos diversos trabalhos ao longo da jornada. Um agradecimento em especial para Flávio Marcel, Monica Kakimori, Eislaine Portes e Melissa Paiva por horas dedicadas a este trabalho.

À Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, em especial Dr. Eidi Yoshihara por ter me acolhido durante uma semana para aprendizado de técnicas e por tudo que me ensinou nesses dois anos.

Ao prof. Petrônio Porto pela disponibilização dos animais do setor de ovinocultura para coleta de fezes e agradeço também meus amigos Lincoln .. e Lauro Bertin pela ajuda na coleta a campo.

Aos membros da banca de qualificação e defesa: Dr.^a Liza Ogawa, Dr. Flávio Haragushiku Otomura, Dra. Luciane Holsback, Dr. Regildo Márcio Gonçalves da Silva, Dr. Eidi Yoshihara, que contribuíram para o enriquecimento deste trabalho.

À Universidade Estadual do Norte do Paraná pela oportunidade da realização da Graduação em Ciências Biológicas e o Mestrado em Agronomia.

A todos meus amigos que mesmo à distância, sempre me apoiaram nessa jornada.

A todos aqueles que de alguma forma me ajudaram nessa jornada, no trabalho ou pela amizade.

A TODOS, MEUS SINCEROS AGRADECIMENTOS!

Botam barreiras no caminho mas sou persistente,
posso cair mas me levanto e sigo em frente.
“Stab – Planet Hemp”

LEME, Matheus Eduardo. **Ação *in vitro* do extrato do botão floral da bananeira (*Musa spp.*) sobre nematódeos gastrintestinais de ovinos.** 2018. Dissertação de Mestrado em Agronomia - Universidade Estadual do Norte do Paraná, *Campus* Luiz Meneghel, Bandeirantes, 2018.

RESUMO

Uma das principais perdas econômicas na ovinocultura corresponde a infecções de nematódeos gastrintestinais. A utilização de produtos químicos de forma indiscriminada no controle desses parasitos têm colaborado com o aparecimento da resistência anti-helmíntica em diversos países incluindo o Brasil. Estudos realizados com o objetivo de controlar os parasitos e reduzir os impactos da resistência, têm relacionado diversas plantas taníferas com propriedades anti-helmínticas, com destaque para *Musa spp.* A bananeira (*Musa spp.*) está amplamente distribuída principalmente em países de clima tropical, seu cultivo é voltado para fins alimentares devido ao seu valor nutritivo. O presente estudo objetivou avaliar a ação anti-helmíntica do extrato hidroalcoólico do botão floral da bananeira (EHB) a 10% em ovos e larvas de nematódeos gastrintestinais de ovinos, assim como sua atividade antioxidante. Foram utilizadas fezes de ovinos naturalmente infectados, selecionados com contagem mínima de 2.000 ovos por grama de fezes (OPG), e realizados testes de eclodibilidade de ovos (TEO) e teste da inibição da migração larval (TIML). Adicionalmente, determinou-se teores de polifenóis totais, taninos condensados, flavonoides e atividade antioxidante do extrato. Foram testadas cinco concentrações do EHB (20; 40; 80; 160 e 320 mg mL⁻¹), controle negativo com água destilada (CN) e controle positivo com sulfóxido de albendazol (CP), em quadruplicada. Em relação ao TEO, o EHB inibiu 82,57% na concentração de 160 mg mL⁻¹, atingindo 100% na concentração de 320 mg mL⁻¹. Em relação ao TIML, o EHB inibiu 90,30% na concentração 80 mg mL⁻¹, 94,80% na concentração de 160 mg mL⁻¹, atingindo 100% na concentração de 320 mg mL⁻¹. O EHB (10 mg mL⁻¹) apresentou 0,38 mg EAG g⁻¹ de polifenóis totais, 372,70 mg EAT g⁻¹ de taninos, 0,42 mg RE g⁻¹ de flavonoides, e atividade antioxidante de 43,03% com IC₅₀ correspondendo à 0,2765 mg mL⁻¹. A atividade do extrato pode estar relacionada aos fenólicos compostos presentes nos extratos, especificamente taninos condensados. Dessa forma, foi possível verificar atividade anti-helmíntica e antioxidante do EHB, demonstrando o seu potencial no controle de verminose em ovinos. Além disso, esses resultados são de grande importância para sistemas orgânicos, agroecológicos e biodinâmicos de produção, cujo uso de parasiticidas sintéticos não é permitido.

Palavras-chave: agroecologia, banana, verminose, ovinocultura, taninos

LEME, Matheus Eduardo. 2018. ***In vitro* action of banana leaf bud extract (*Musa spp.*) on gastrointestinal nematodes of sheep** Dissertação de Mestrado em Agronomia - Universidade Estadual do Norte do Paraná, *Campus* Luiz Meneghel, Bandeirantes, 2018.

ABSTRACT

One of the main economic losses in sheep farming is gastrointestinal nematode infections. The indiscriminate use of chemicals to control these parasites has contributed to the appearance of anthelmintic resistance in several countries including Brazil. Studies carried out with the objective of controlling the parasites and reducing the impacts of resistance have related several tannins plants with anthelmintic properties, especially *Musa spp.* The banana tree (*Musa spp.*) is widely distributed mainly in countries with a tropical climate; its cultivation focused on food purposes due to its nutritional value. The present study aimed to evaluate the anthelmintic action of the hydroalcoholic extract of the floral bud of the banana tree (HEB) to 10% in eggs and larvae of gastrointestinal nematodes of sheep, as well as its antioxidant activity. Samples of naturally infected sheep were used with a minimum egg count of 2,000 eggs per gram of feces (EPG), and egg hatchability tests (EHT) and larval migration inhibition test (LMIT) were performed. In addition, total polyphenols, condensed tannins, flavonoids, and antioxidant activity of the extract were determined. Five concentrations of HEB (20; 40; 80; 160 and 320 mg mL⁻¹), negative control with distilled water (NC) and positive control with Albendazole Sulfide (PC) were tested in quadruplicate. In relation to EHT, HEB inhibited 82.57% in the concentration of 160 mg mL⁻¹, reaching 100% in the concentration of 320 mg mL⁻¹. In relation to LMIT, HEB inhibited 90.30% in the concentration 80 mg mL⁻¹, 94.80% in the concentration of 160 mg mL⁻¹, reaching 100% in the concentration of 320 mg mL⁻¹. The HEB (10 mg mL⁻¹) presented 0.38 mg EAG g⁻¹ of total polyphenols, 372.70 mg EAT g⁻¹ of tannins, 0.42 mg RE g⁻¹ of flavonoids, and antioxidant activity of 43, 03% with IC 50 corresponding to 0.2765 mg mL⁻¹. The activity of the extract could be related to the phenolic compounds present in the extracts, specifically condensed tannins. Thus, it was possible to verify the anthelmintic and antioxidant activity of the HEB, demonstrating its potential in the control of verminosis in sheep. In addition, these results are of great importance for organic, agroecological and biodynamic production systems, whose use of synthetic parasiticides is not allowed.

Key-words: agroecology, banana, verminose, sheep, tannins

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1 INTRODUÇÃO | 1 |
| 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 3 |
| 2.1 Ovinocultura..... | 3 |
| 2.2 Verminose na ovinocultura..... | 4 |
| 2.3 Resistência anti-helmíntica..... | 5 |
| 2.4 Plantas medicinais na produção animal..... | 7 |
| 2.4.1 Banana (<i>Musa</i> spp)..... | 8 |
| 2.4.2 Taninos Condensados..... | 9 |
| 2.5 Testes de eclodibilidade de ovos e de inibição da migração larval..... | 10 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 12 |
| 3 OBJETIVO GERAL | 19 |
| 2.1 Objetivos específicos..... | 19 |
| 4 ARTIGO: AÇÃO <i>in vitro</i> DO EXTRATO DO BOTÃO FLORAL DA BANANEIRA (<i>Musa</i> spp.) SOBRE HELMINTOS GASTRINTESTINAIS DE OVINOS | |
| 4.1 Resumo e Abstract..... | 20 |
| 4.2 Introdução..... | 21 |
| 4.3 Material e Métodos..... | 22 |
| 4.4 Resultados e Discussão..... | 27 |
| 4.5 Conclusão..... | 34 |
| Agradecimentos..... | 34 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 34 |
| APÊNDICE | 37 |
| Apêndice A – COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS..... | 38 |

1. INTRODUÇÃO

A ovinocultura vem se destacando como uma opção pecuária (GÜETTER, 2011; GIANLOURENÇO, 2013), segundo o IBGE (2015), o efetivo da pecuária brasileira foi estimado em 18.410 milhões de ovinos. O estado do Paraná apresenta 650.231 animais (IBGE, 2015), em criações com ênfase na produção de cordeiros para o abate, geralmente nas pequenas propriedades e com altas lotações.

Esses animais foram introduzidos no Brasil a partir de 1556, sendo estabelecido no século XX, no estado do Rio Grande do Sul, com objetivo exclusivo da produção de lã. Nesta época, o principal produto da ovinocultura era a lã e este mercado se encontrava em ascensão no mundo (VIANA; SILVEIRA, 2009).

Uma das principais perdas econômicas na ovinocultura é devido aos danos causados pelos nematódeos gastrintestinais. As perdas econômicas estão relacionadas a diminuição no ganho de peso, resultando em uma menor produção de carne, leite e lã, menor rendimento de carcaça, aumento na taxa de mortalidade e gastos com medicamentos (MORGAN, 2013).

A utilização de produtos químicos de forma indiscriminada no controle desses parasitos tem colaborado com o aparecimento da resistência anti-helmíntica em diversos países (KAPLAN; VIDYASHANKAR, 2012) incluindo o Brasil. Segundo Fortes et al. (2013), a seleção e o crescimento de indivíduos resistentes aos grupos de anti-helmínticos (benzimidazóis, imidotiazóis e avermectinas), constituem um sério problema para ovinocultura e o monitoramento de indivíduos resistentes se tornam imprescindíveis, principalmente em decisões relacionadas ao controle anti-helmíntico no rebanho.

Os resíduos desses medicamentos são eliminados nos dejetos dos animais e podem causar danos ao meio ambiente (FLOATE, 2006; MARTÍNEZ; LUMARET, 2006). Além disso, estes resíduos de anti-helmínticos podem determinar riscos à segurança alimentar, devido à possível presença dessas substâncias nos alimentos de origem de animal (CERQUEIRA et al., 2014).

A tendência em diminuir o uso de medicamentos sintéticos com objetivo de favorecer a saúde do consumidor e reduzir seus efeitos nocivos ao ambiente vem crescendo no mercado mundial. Dessa forma, a utilização de produtos naturais para o controle sanitário animal está cada vez mais em evidência. O uso de produtos naturais

determina a possibilidade de proporcionar menor exposição aos medicamentos químicos (SMITH, et al., 2013).

O interesse por produtos naturais e fitoterápicos vem crescendo nos últimos anos no Brasil e no mundo. Em países desenvolvidos como França, Itália, Alemanha e Canadá, o uso de produtos da medicina tradicional têm o mesmo peso do sistema alopático, sendo praticado por 70 a 90% da população (WHO, 2011; BRASIL, 2004).

Os produtos naturais possuem uma grande quantidade e variedade de substâncias com atividade biológica. Estima-se que aproximadamente 40% dos medicamentos disponíveis atualmente no mercado foram desenvolvidos direta ou indiretamente a partir destas de plantas (CALIXTO, 2001; WHO, 2011).

Estudos realizados com o objetivo de controlar os parasitos e reduzir os impactos da resistência farmacológica têm relacionado diversas plantas taniníferas com propriedades anti-helmínticas, com destaque para *Musa* spp. (NEUWIRT et al., 2015; NOGUEIRA et al., 2012).

A bananeira (*Musa* spp.) está amplamente distribuída principalmente em países de clima tropical e seu cultivo é voltado para fins alimentares devido ao seu valor nutritivo. Considerando o alto teor de taninos (PEREIRA; MARASCHIN, 2015) presente nas bananeiras, a mesma apresenta-se como alternativa para o controle natural de parasitas gastrintestinais (NEUWIRT et al., 2015; NOGUEIRA et al., 2012).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 OVINOCULTURA

O Brasil possui atualmente 18.410 milhões de ovinos, onde a região Nordeste detém 60,61%, seguida pela região Sul (26,52%), Centro-Oeste (5,48%), Sudeste (3,80%) e Norte (3,59%), representando 1,33% do rebanho total mundial (IBGE, 2015), sendo considerado o 18º maior produtor de ovinos do mundo (FAO, 2015). Embora a grande extensão territorial brasileira, o rebanho ovino é menor quando comparado às demais criações, como o rebanho bovino, que possui 212.366 milhões cabeças e de suínos com 37.930 milhões de cabeças (FAO, 2015).

Os ovinos são utilizados para diversos fins econômicos, como para a produção de carne, leite, lã e pele. Mas para que esses animais produzam de forma eficiente, suas necessidades devem ser supridas e fazendo-se necessário controle parasitário efetivo de forma a proporcionar qualidade para os consumidores (OIE, 2014).

De acordo com Bortoli (2008), a carne ovina está em crescimento no mercado e os consumidores passarão a exigir melhor qualidade e padronização. Ainda de acordo com este autor, no Estado do Paraná a ovinocultura é promissora e apresenta-se como alternativa de renda para propriedades rurais. A qualidade da carne ovina pode ser definida pela cor da carne e gordura, sabor, maciez, quantidade de gordura intermuscular, marmoreio, cobertura no músculo, além dos atributos sensoriais, aroma, aspecto sanitário entres outros. Estes parâmetros podem ser influenciados por fatores como raça, idade, sexo, nutrição, peso de abate e sistemas de terminação (pastejo, semiconfinamento ou confinamento) ou podem ser influenciados também pelas condições de abate, armazenamento na câmara fria e métodos de conservação (OSÓRIO; OSÓRIO; SAÑUDO, 2009; OLIVEIRA et al., 2013; PANEA; RIPOLI; JOY, 2013; ALVES; OSÓRIO; FERNANDES, 2014).

A produção de leite de origem ovina no Brasil, é ainda pouco explorada. O leite ovino é caracterizado por sua riqueza em sólidos, sendo amplamente utilizado na fabricação de queijos (RAMOS; JUAREZ, 2011).

A ovinocultura é uma importante fonte de renda para pequenas e médias propriedades rurais e, atualmente, está passando por uma fase de consolidação e crescimento. No entanto, em países de clima tropical como o Brasil, a verminose

gastrintestinal continua sendo o principal problema sanitário enfrentado pela atividade (CHAGAS; VERÍSSIMO, 2008; SCZESNY-MORAES et al., 2010).

2.2 VERMINOSE NA OVINOCULTURA

A verminose é um dos principais problemas que acometem a produção de ovinos e devido à sua alta frequência, essa enfermidade requer muita atenção dos produtores (COSTA; SIMÕES; RIET-CORREA, 2009). Prejuízos causados por helmintos gastrintestinais incluem menor ganho de peso, maior mortalidade, menor rendimento de carcaça, menor produção de leite, má qualidade da lã e baixa fertilidade (VIEIRA, 2008). Os animais infectados apresentam sinais clínicos como anemia, diarreia, fraqueza e prostração (CAVALCANTI; ALMEIDA; DIAS, 2007), afetando a lucratividade do produtor e o bem-estar animal.

Os ovinos podem ser parasitados por vários gêneros de nematódeos, tais como *Strongyloides*, *Bunostomum*, *Trichostrongylus*, *Ostertagia*, *Cooperia*, *Chabertia*, *Oesophagostomum*, *Trichuris*, *Nematodirus* e *Haemonchus* (FORTES, 2004). O Brasil apresenta clima tropical e com isso, a maior frequência corresponde aos gêneros *Haemonchus*, *Oesophagostomum* e *Trichostrongylus*, e destes, o *Haemonchus* é o mais prevalente (BASSETO et al., 2009), já que suas larvas apresentam um ótimo desenvolvimento em temperaturas relativamente altas (URQUHART, 1996). Além disso, destaca-se a alta fecundidade das fêmeas, produzindo de 1.000 a 5.000 ovos por dia (UENO; GONÇALVES, 1998). Na região Sul o parasitismo por *Nematodirus spathiger*, *Ostertagia ostertagi* e *Teladorsagia circumcincta*, é registrado com frequência (RAMOS et al., 2004).

O ciclo biológico da maioria desses nematódeos gastrintestinais é de forma direta, com fase de vida livre, que ocorre no ambiente, e fase de vida parasitária que se desenvolve no animal. A fase de vida livre inicia-se com a eliminação de ovos nas fezes. Na pastagem, os ovos tornam-se embrionados, a larva de primeiro estágio (L₁) eclode, sofre muda para L₂ e evolui para L₃ (forma infectante), que possui cutícula dupla. O período desde a eliminação do ovo até L₃ varia entre cinco a dez dias, dependendo das condições ambientais, principalmente umidade e temperatura. A L₃ migra do bolo fecal para a pastagem, onde é ingerida pelos animais juntamente com a forragem, iniciando-se a fase parasitária. As larvas chegam ao abomaso ou ao intestino onde evoluem para (L₄). Em seguida, atingem o estágio adulto na luz do órgão parasitado e, após a cópula, as

fêmeas iniciam a ovipostura. O período pré-patente, em geral, varia de 14 a 28 dias (TAYLOR; COOP; WALL, 2007).

No período seco, o número de helmintos adultos presentes no trato digestório dos animais é maior que no período chuvoso, indicando relação inversa entre o número de larvas infectantes nas pastagens e o número de helmintos adultos nos ovinos (PEREIRA et al., 2008). Para permanecer nas pastagens, as L₃ devem realizar um trajeto que requer a presença de contínuo filme de água, usualmente, resultante da chuva ou do orvalho (BISSET, 1994).

Em relação ao hospedeiro, animais jovens com menos de seis meses de idade são mais suscetíveis que adultos, porém em certas condições, os adultos também podem contrair infecções graves, principalmente em situações de estresses térmicos, prenhez, lactação e subnutrição, nas quais ocorre queda na imunidade podendo favorecer a ocorrência de infecções parasitárias elevadas (HASSUM; MENEZES, 2005). Os animais mais vulneráveis ao parasitismo são aqueles que recebem alimentos de baixa qualidade nutricional, especialmente de proteína bruta, desse modo não apresentam condições de desenvolver resposta imunológica capaz de prevenir a infecção (VIEIRA; CAVALCANTE; XIMENES, 1997).

Geralmente, a produção ovina é realizada em áreas pequenas, com pastoreio contínuo e alta carga animal. A exploração intensiva das áreas de pastejo e a superlotação ocasiona uma alimentação menos seletiva, diminuindo as áreas de rejeição próximo das fezes e esse fator conduz o aumento de ingestão de larvas infectantes presentes no pasto (PEGORARO, 2008). A pastagem contaminada com as larvas infectantes é a forma de infecção para os animais, pois se tem uma relação direta entre o número de larvas de terceiro estágio (L₃) encontrados na pastagem e a contagem de ovos por grama de fezes (OPG). A procura por estratégias como o uso de terapias naturais e também pastejo integrado à outras espécies, têm sido observadas com frequência (BATATINHA et al., 2011).

2.3 RESISTÊNCIA ANTI-HELMÍNTICA

O combate aos nematódeos gastrintestinais é baseado pelo uso repetitivos com drogas anti-helmínticas sintéticas (AMARANTE et al., 1997). De acordo com Sidan (2013) sobre os gastos com anti-helmínticos, dos 15 bilhões de dólares anuais em produtos veterinários vendidos no mundo, 27% são referentes aos antiparasitários. No

Brasil, esse valor chega aos 42% do volume total de vendas dos produtos veterinários (MOLENTO et al., 2004).

A prática de tratamentos recorrentes nos animais favorece o aparecimento de populações de parasitas resistentes (TORRES-ACOSTA; HOSTE, 2008). Segundo Sangster e Gill (1999a), a resistência aos anti-helmínticos é a redução da eficiência de uma droga contra uma população de helmintos, anteriormente suscetível àquele tratamento. Algumas práticas podem favorecer o aparecimento da resistência parasitária, dentre elas: utilizar produtos de ação prolongada com grande frequência, ou seja, acima de três vezes ao ano; alternar diferentes famílias de medicamentos em intervalos inferiores a um ano; tratar o rebanho em intervalos curtos, especialmente quando estes são inferiores ao período pré-patente dos helmintos (CAVALCANTE et al., 2009; COSTA; SIMÕES; RIET-CORREA, 2011).

O primeiro relato de resistência a anti-helmínticos no controle de helmintos gastrintestinais de ovinos foi descrito na década de 1960, onde foram avaliados tratamentos com tiabendazole (DRUDGE et al., 1964).

Cunha Filho e Yamamura (1999) relataram pela primeira vez na região norte do Paraná, um alto número de resistência parasitária aos anti-helmínticos ivermectina e albendazole, relatando também maior ocorrência do gênero *Haemonchus*.

Echevarria et al. (1996) em estudos com cordeiros que recebiam menos que três tratamentos ao ano, observaram 6,7% de resistência; com quatro a seis tratamentos, observaram 44,9%, e com mais de sete tratamentos, observaram 48,3% de resistência.

Estudo realizado no Rio Grande do Sul por Cezar et al. (2010) demonstraram que nos testes da eficiência dos anti-helmínticos não ocorreu a redução na contagem de OPG, concluindo a presença da resistência aos princípios ativos: albendazole, ivermectina, nitroxil, triclorfon, closantel, disofenol, levamisole, moxidectina, e associação de ivermectina + levamisole + albendazole neste estado.

Holsback, Marquez e Meneghel (2013) relataram resistência ao closantel para o gênero *Oesophagostomum*. Holsback et al. (2016) observaram resistentes ao tratamento com doramectina e fenbendazol individualmente, e ao tratamento com combinações envolvendo doramectina + fenbendazol, fenbendazol + nitroxinil e doramectina + fenbendazol + nitroxinil, testados em helmintos de ovinos.

De forma geral, quanto mais se combate a verminose com drogas anti-helmínticas, mais facilmente é desenvolvido a resistência. O tratamento com drogas determina o

aparecimento de vermes resistentes e quando esses indivíduos conseguem se reproduzir, acabam passando genes resistentes para a próxima geração (SANGSTER; GILL, 1999b).

2.4 PLANTAS MEDICINAIS NA PRODUÇÃO ANIMAL

A utilização de recursos naturais como as plantas em práticas de cuidados com a saúde é tão antiga quanto o próprio homem. Nesse contexto, surge a fitoterapia, um termo empregado para descrever a prática terapêutica que utiliza medicamentos confeccionados a partir de princípios ativos extraídos das plantas (RODRIGUES; AMARAL, 2012). Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2004), fitoterápico é todo medicamento obtido empregando-se exclusivamente matérias-primas ativas vegetais.

Plantas medicinais podem ser definidas como plantas que proporcionam alívio ou cura de doenças, seu uso está relacionado ao conhecimento sobre coleta, preparo e uso tradicional em determinadas populações. Quando uma planta medicinal é industrializada, no processo de produção de medicamentos, passa a ser considerada como um fitoterápico. O processo de industrialização deve evitar contaminações e proporcionar padronização da quantidade de modo a garantir uso seguro do medicamento. O comércio dos fitoterápicos está submetido aos registros pela Anvisa/Ministério da Saúde (BRASIL, 2010).

Segundo Corrêa e Salgado (2011) são inúmeras as plantas que possuem tais qualidades, estas já estão sendo introduzidas nas propriedades rurais e são ricas em substâncias bioativas, além de serem biodegradáveis e apresentarem baixa ou nenhuma toxicidade em mamíferos. No Brasil, há cerca de 350 mil espécies de plantas medicinais descritas. Na prática de tratamento com plantas medicinais, pode-se utilizar diversas estruturas e órgãos vegetais, bem como as diversas formas de preparo (REZENDE; COCCO, 2002).

Oliveira et al. (2009) ressaltam que a procura sobre uso de plantas medicinais para o tratamento dos animais vem aumentando. Isto ocorre devido à preocupação do consumidor com a inocuidade dos alimentos e também a contaminação do meio ambiente. Assim, quando se fala em produção de alimentos, seja do ponto de vista da saúde humana ou ambiental, também se fala na redução do uso de quimioterápicos, os quais podem causar diversos efeitos colaterais e impactos ambientais.

O controle de helmintos ao longo do tempo sempre foi realizado por meio da utilização de fármacos químicos. Entretanto, o uso indiscriminado dos antiparasitários

teve como consequência a seleção de populações de parasitos resistentes aos diversos grupos químicos utilizados no tratamento dos animais (COLES et al., 2006; JACKSON; VARADY; BARTLEY, 2012; PARAUD et al., 2009; VIEIRA; CAVALCANTE, 1999).

O alto custo dos anti-helmínticos e os resíduos que esses vermífugos deixam no ambiente e nos produtos de origem animal, levaram os produtores à procurarem por alternativas, como as plantas medicinais. Portanto, se faz necessário descobrir e desenvolver novos modelos de controle mais seletivos e menos agressivos ao homem e ao ambiente, sendo assim, a utilização de plantas medicinais pode representar importante alternativa para amenizar esses problemas (OLIVEIRA et al., 2009).

A fitoterapia moderna é considerada um ramo da medicina que se orienta por base de experimentação científica (RICHTER; LÖSCHER, 2002). A validação científica dos efeitos anti-helmínticos e seus possíveis efeitos colaterais dos produtos vegetais em ruminantes se faz necessária antes de utilizar como um novo método para controle de parasitas (GITHIORI; ATHANASIADOU; THAMSBORG, 2006).

2.4.1 BANANEIRA (*Musa spp.*)

A banana é um dos alimentos mais consumidos no mundo e no Brasil o cultivo é bastante difundido, sendo produzidas em média sete milhões de toneladas de bananas por ano (LICHTEMBERG; LICHTEMBERG, 2011). A banana é considerada a segunda fruta mais apreciada pela população, atrás apenas da laranja, encontra-se cultivada em todos os estados brasileiros. Ela está incluída na refeição da população de baixa renda, pelo custo relativamente baixo e pelo seu valor nutricional. É consumida principalmente na sua forma *in natura* (SILVA; RAMOS, 2009).

A bananeira é uma planta herbácea que requer alto teor de nutrientes e água, seu desenvolvimento é rápido atingindo grande porte em torno de sessenta dias. O botão floral da bananeira é popularmente conhecido como coração da bananeira, ou também de umbigo da banana ou botão floral da bananeira, encontra se logo abaixo da raque masculina após o desenvolvimento do cacho de bananas (LICHTEMBERG; LICHTEMBERG, 2011; SERRA, 2012). O botão floral da bananeira é um resíduo e a falta de estudos sobre os compostos presentes em alimentos promove o seu mau uso, gerando desperdício de toneladas de recursos alimentares. Com isso, a utilização de um resíduo depende principalmente de sua composição química (PEREIRA, 2015).

A bananeira pode ser uma alternativa para o controle anti-helmíntico natural (NEUWIRT et al., 2015; NOGUEIRA et al., 2012), devido ao seu alto teor de taninos (PEREIRA, 2015). De acordo com Niezen et al. (1995), a utilização de plantas ricas em taninos condensados pode ser indicada como alternativa no controle de verminose em ovinos, reduzindo o uso de produtos químicos, assim como os custos de produção. A utilização de fontes de taninos condensados na dieta dos animais melhora a produtividade do rebanho por diminuir a pressão de seleção sobre os nematódeos gastrintestinais.

2.4.2 TANINOS CONDENSADOS

Os taninos fazem parte de grande grupo de compostos encontrados principalmente em frutos verdes e plantas da família Leguminosae, bem comuns no reino vegetal. Esses compostos fenólicos são classificados conforme sua estrutura molecular em taninos hidrolisáveis ou taninos condensados, sendo os condensados também conhecidos como proantocianidinas. Os taninos condensados são os taninos mais encontrados em plantas forrageiras, arbustos e árvores (BARRY; McNABB, 1999).

Os taninos condensados podem agir sobre nematódeos gastrointestinais de forma direta, ligando-se à cutícula externa, trato digestivo e reprodutivo dos helmintos, causando inibição do desembainhamento e da migração larval (HOSTE et al., 2012). Efeitos como inibição do desenvolvimento e motilidade de larvas e adultos, além da redução da eclodibilidade dos ovos, foram observados *in vitro* (HOSTE et al., 2012). *In vivo*, podem prejudicar a ovipostura de fêmeas adultas no trato digestivo dos ruminantes, o que reduz a quantidade de OPG e conseqüentemente pode favorecer a diminuição da contaminação na pastagem. Sendo assim, os taninos foram associados à redução do número de helmintos infectantes (SHALDERS et al., 2014).

Ação anti-helmíntica indireta dos taninos condensados foi associada ao melhor aproveitamento do teor proteico da dieta (HOSTE et al., 2012). Os taninos são capazes de ligarem-se às proteínas protegendo-as da degradação ruminal, favorecendo maior disponibilidade proteica para absorção intestinal (HOSTE et al., 2012).

Hoste et al. (2006) descreveram alterações na superfície da cutícula de *T. colubriformis*, constatando a presença de rugas transversais após o contato do parasito com taninos condensados. De acordo com os autores, a capacidade dos taninos condensados de se ligarem às proteínas pode explicar as lesões observadas na cutícula pela microscopia eletrônica de varredura.

Brunet, Foruquaux e Hoste (2011) compararam a estrutura de larvas de terceiro estágio com bainha e sem bainha de *H. contortus* e *T. colubriformis*. Foram observadas alterações na camada hipodérmica, degeneração das células musculares e intestinais e também presença de numerosas vesículas no citoplasma, o que resultou na morte larval. Alterações superficiais na camada hipodérmica e células musculares, foram mais frequentes em larvas embainhadas. Já em larvas desembainhadas, foram mais frequentes alterações nas camadas mais profundas como células intestinais. Essas diferenças sugerem que as ações dos taninos condensados nos diferentes tipos celulares dependem da presença ou não da bainha, uma vez que a larva L₃ quando ingerida ocorre o desembainhamento.

Yoshihara, Minho e Yamamura (2013), trabalhando com nematódeos adultos, utilizaram testes *in vitro* e *in vivo* e constataram o efeito dos taninos condensados utilizando microscopia eletrônica de varredura. No teste *in vitro* foi observada a presença de rugas transversais na cutícula em toda a extensão corporal e presença de rupturas da cutícula, com aparente extravasamento de material interno. No teste *in vivo* foram observadas rupturas da cutícula, com aparentemente extravasamento de material interno, alterações estas semelhantes às observadas *in vitro*. Além disso, na região cefálica foram observadas alterações estruturais com perda da integridade.

2.5 TESTES DE ECLODIBILIDADE DE OVOS E DE INIBIÇÃO DA MIGRAÇÃO LARVAL

A validação de fitoterápicos como anti-helmínticos é realizada a partir da submissão de extratos provindos das plantas hipoteticamente ativas a diversos testes (HOSTE et al., 2012). Coles et al. (2006) revisaram diversos métodos que podem ser utilizados para a identificação de resistência anti-helmíntica, tais como: testes de eficácia controlados e *in vitro*, de eclodibilidade de ovos (TEO), de redução na contagem de ovos (OPG), de desenvolvimento larval e moleculares, inibição da migração larval (TIML).

Inicialmente, o TEO foi criado para detecção da resistência aos medicamentos. Esse método consiste na incubação de ovos não desenvolvidos em concentrações crescentes do anti-helmíntico a ser testado. Pode ser utilizado para avaliação do embrionamento e eclosão dos ovos de nematódeos (FORTES; MOLENTO, 2013). Esse teste tem a finalidade de avaliar a capacidade dos extratos em impedir a liberação de larvas dos ovos submetidos ao contato direto com o mesmo. O que se observa em

avaliações que detectam compostos bioativos é a interrupção do processo de desenvolvimento blastular do embrião do nematoda ou mesmo de vias enzimáticas ou de enzimas associadas a eclosão (NERY; DUARTE; MARTINS, 2009).

Alguns fatores que podem influenciar os resultados obtidos com o TEO, incluem: grau de limpeza dos ovos (presença de detritos); método de dissolução do extrato (por exemplo DMSO e água); diferentes fontes de água utilizada (destilada, deionizada ou água da torneira) (COLES et al., 2006).

O TIML avalia a resistência a anti-helmínticos que possuem como sítio de atuação a musculatura somática das larvas dos nematódeos, tanto pela atuação nas vias estimuladoras ou inibitórias. É estudada a avaliação da capacidade migratória de larvas L₃ após um período de incubação com a solução tratamento (D'ASSONVILLE; JANOVSKY; VERSTER, 1996). O TIML é um teste fácil, simples e capaz de ser realizado na maioria dos laboratórios. Além disso, o teste requer larvas de terceiro estágio que podem ser facilmente obtidas a partir de cultura de larvas (DEMELER; KUTTLER; SAMSON-HIMMELSTJERNA, 2010).

Diversas técnicas semelhantes a migração larval foram publicadas, sendo adaptadas para o uso de diferentes drogas e espécies de nematódeos de ovinos (WAGLAND et al., 1992; DOUCH; MORUM, 1994; MOLENTO; PRICHARD, 2001).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, L. G. C.; OSÓRIO, J. C. S.; FERNANDES, A. R. M. Produção de carne ovina com foco no consumidor. **Enciclopédia Biosfera**, v. 10, n. 18, p. 2399, 2014.

AMARANTE, A. F. T. et al. Host specificity of sheep and cattle nematodes in São Paulo State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 73, n. 1-2, p. 89-104, 1997.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **RDC nº 48** de 16 de março de 2004. Dispõe sobre o Registro de Medicamentos Fitoterápicos. 18 mar. 2004. <<http://www.anvisa.gov.br>> Acesso em: 18 dez. 2017.

BARRY, T. N.; McNABB, W. C. The implication of condensed tannins on the nutritive value of temperate forages fed to ruminants. **British Journal of Nutrition**, v. 81, n. 4, p. 263-272, 1999.

BASSETO, C. et al. Contaminação da pastagem com larvas infectantes de nematoides gastrintestinais após o pastejo de ovelhas resistentes ou susceptíveis à verminose. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 18, n. 4, p. 63-68, 2009.

BATATINHA, M. J. M.; et al O. Efeitos dos extratos aquoso e metanólico de algaroba sobre culturas de larvas de nematódeos gastrintestinais de caprinos. **Ciência Animal Brasileira**, v.12, p. 514-519, 2011.

BISSET, S. A. Helminth parasites of economic importance in cattle in New Zealand. **New Zealand Journal of Zoology**, v. 21, n. 1, p. 9-22, 1994.

BORTOLI, E. C. **O mercado de carne ovina no Rio Grande do Sul sob a ótica de diversos agentes**. 2008. 140 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Centro de Estudos e Pesquisas em Agronegócios, Programa de Pós-Graduação em Agronegócios.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, **RDC nº 14**, de 31 de março de 2010. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>> Acesso em: 27 dez. 2017.

_____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **RDC nº 48**, de 16 de março de 2004. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>> Acesso em: 18 dez. 2017.

BRUNET, S.; FORUQUAUX, I.; HOSTE, H. Ultrastructural changes in the third-stage, infective larvae of ruminant nematodes treated with sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) extract. **Parasitology International**, v. 60, n. 4, p. 419-424, 2011.

CALIXTO, J. B. Biological activity of plant extracts: novel analgesic drugs. **Expert Opinion on Emerging Drugs**, v. 2, p. 261-279, 2001.

- CAVALCANTE, C. R. C.; VIEIRA, L. S.; CHAGAS, A. C. S.; MOLENTO, M. B. **Doenças parasitárias de ovinos e caprinos: epidemiologia e controle**. Brasília, DF: Embrapa, 2009. 603 p. (Informação Tecnológica).
- CAVALCANTI, A. S. R.; ALMEIDA, M. A. O.; DIAS, A. V. S. Efeito de medicamentos homeopáticos no número de ovos de nematódeos nas fezes (OPG) e no ganho de peso em ovinos. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 8, p. 162-169, 2007.
- CERQUEIRA, M. M. O. P. et al. Detection of antimicrobial and anthelmintic residues in bulk tank milk from four different mesoregions of Minas Gerais State - Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 66, n. 2, p. 621-625, 2014.
- CEZAR, A. S. et al. Multiple resistance of gastrointestinal nematodes to nine different drugs in sheep flock in southern Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 173, n. 1-2, p. 157-160, 2010.
- CHAGAS, A. C. S.; VERÍSSIMO, C. J. **Principais enfermidades e manejo sanitário de ovinos**. São Carlos, SP: Embrapa Pecuária Sudeste, 2008.
- COLES, G. C. et al. The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. **Veterinary Parasitology**, v. 136, p.167–185, 2006.
- CORRÊA, J. C. R.; SALGADO, H. R. N. Atividade inseticida das plantas e aplicações: revisão. **Revista Brasileira de Plantas Medicináveis**, v. 13, n. 4. p. 500-506, 2011.
- COSTA, V. M. M.; SIMÕES, S. V. D.; RIET-CORREA, F. Doenças parasitárias em ruminantes no semi-árido brasileiro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, n. 7, p. 563-568, 2009.
- COSTA, V. M. M.; SIMÕES, S. V. D.; RIET-CORREA, F. Controle das parasitoses gastrintestinais em ovinos e caprinos na região semiárida do Nordeste do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.31, n.1, p.65-71, 2011.
- CUNHA FILHO, L. F. C. D.; YAMAMURA, M. H. Resistência a anti-helmínticos em ovinos da região de Tamarana, Paraná, Brasil. **UNOPAR Científica**. Ciências biológicas e da saúde, v. 1, n. 1, p. 31-39, 1999.
- D'ASSONVILE, J. A.; JANOVSKY, E.; VERSTER, A. *In vitro* screening of *Haemonchus contortus* third larvae for ivermectin resistance. **Veterinary Parasitology**, v. 61. p. 73-80, 1996.
- DEMELER, J.; KUTTLER, U.; SAMSON-HIMMELSTJERNA, G. Adaptation and evaluation of three different in vitro tests for the detection of resistance to anthelmintics in gastro intestinal nematodes of cattle. **Veterinary Parasitology**, v.170, n. 1-2, p. 61-70, 2010.
- DOUCH, P. G.; MORUM, P. E. The effects of anthelmintics on ovine larval nematode parasite migration in vitro. **International Journal for Parasitology**, v. 24, n. 3, p. 321-326, 1994.

DRUDGE, J. H.; SZANTO, J.; WYATT, Z. N.; ELAM, G. Field studies on parasite control in sheep: Comparison of thiabendazole, ruelene, and phenothiazine. **American Journal of Veterinary Research**, v. 25, n. 1, p. 1512-1518. 1964.

ECHEVARRIA, F. et al. The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in Southern Latin America: Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 62, n. 3-4, p.199-206, 1996.

FAO (Food and Agriculture Organization), 2015. Disponível em: <www.fao.org> . Acesso em: 27 dez. 2017.

FLOATE, K. D. Endectocide use in cattle and fecal residues: environmental effects in Canada. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v.70, p.1-10, 2006.

FORTES, E. **Parasitologia Veterinária**. Revista Ampliada e Atualizada. Ícone, 2004. 607p.

FORTES, F. S. et al. Evaluation of resistance in a selected field strain of *Haemochus contortus* to ivermectin and moxidectin using the larval migration on agar test. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 2, p.183-187, 2013.

FORTES, F. S.; MOLENTO, M. B. Resistência anti-helmíntica em nematoides gastrintestinais de pequenos ruminantes: avanços e limitações para seu diagnóstico. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 12, p. 1391-1402, 2013.

GIANLORENÇO, V.K. **Produção de carne ovina pode ser mais rentável que bovina**. São Paulo: SEBRAE. mar. 2013. Disponível em: <<http://www.sebraesp.com.br/index.php/165-produtosonline/administracao/publicacoes/32artigos/8030-producao-de-carne-ovina-pode-ser-mais-rentavel-que-bovina>>. Acesso em: 17 dez. 2017.

GITHIORI, J. B.; ATHANASIADOU, S.; THAMSBORG, S. M. Use of plants in novel approaches for control of gastrointestinal helminthes in livestock with emphasis on small ruminants. **Veterinary Parasitology**, v.139, n. 4, p. 308-320, 2006.

GÜETTER, C. Ovinocultura: atividade em ampla expansão. **O Paraná**. 2011. Disponível em: <<http://www.oparana.com.br/rural/ovino-cultura-atividade-em-ampla-expansao-600/>>. Acesso em: 17 dez. 2017.

HASSUM, I. C.; MENEZES, R. C. A. A. Infecção natural por espécies do gênero *Eimeria* em pequenos ruminantes criados em dois municípios do estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 14, n. 3, p. 95-100, 2005.

HOLSBACK, L.; MARQUEZ, E. S.; MENEGHEL, P. P. Anthelmintic efficiency of doramectin, fenbendazole, and nitroxynil, in combination or individually, in sheep worm control. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 25, n. 3, p. 353-538, 2016.

_____. Resistência parasitária de helmintos gastrointestinais e avaliação dos parâmetros hematológicos de ovinos no norte do Paraná. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 35, n. 1, p. 76-84, 2013.

HOSTE, H. et al. The effects of tannin-rich plants on parasitic nematodes in ruminants. **Trends in Parasitology**, v. 22, n. 6, p. 253- 261, 2006.

HOSTE, H. et al. Direct and indirect effects of bioactive tannin-rich tropical and temperate legumes against nematode infections. **Veterinary Parasitology**, v. 186, n. 1-2, p. 18-27, 2012.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Pesquisa Pecuária Municipal**, 2015. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/estatisticas-novoportal/economicas/agricultura-e-pecuaria/9827-censo-agropecuario.html>>. Acesso em: 18 dez. 2017.

JACKSON, F.; VARADY, M.; BARTLEY, D. J. Managing anthelmintic resistance in goats - Can we learn lessons from sheep? **Small Ruminant Research**, v. 103, n. 1, p. 3-9, 2012.

KAPLAN, M. R.; VIDYASHANKAR, A. N. An inconvenient truth: Global worming and anthelmintic resistance. **Veterinary Parasitology**, v.186, n. 1-2, p.70-78, 2012.

LICHTEMBERG, L. A.; LICHTEMBERG, P. S. F. Avanço na bananicultura brasileira. **Revista Brasileira Fruticultura**, v. 33, p. 29-36, 2011.

MARTÍNEZ M. I.; LUMARET, J. P. Las prácticas agropecuarias y sus consecuencias en la entomofauna y el entorno ambiental. **Folia Entomológica Mexicana**, v. 45, n. 1, p. 57-68, 2006.

MOLENTO, M. B.; PRICHARD, R. K. Effect of multigrug resistance modulators on the activity of ivermectin and moxidectin against selected strains of *Haemonchus contortus* infective larvae. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 21, p. 117-121, 2001.

MOLENTO, M. B. et al. Método Famacha como parâmetro clínico individual de infecção por *Haemonchus contortus* em pequenos ruminantes. **Ciência Rural**, v. 34, n. 4, p. 1139-1145, 2004.

MORGAN, E.R. et al. Global change and helminth infections in grazing ruminants in Europe: impacts, trends and sustainable solutions. **Agriculture**, v.3, p. 484-502, 2013.

NERY, P. S.; DUARTE, E. R.; MARTINS, E. R. Eficácia de plantas para o controle de nematódeos gastrintestinais de pequenos ruminantes: revisão de estudos publicados. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 11, p. 330-338, 2009.

NEUWIRT, N. et al. Effect of *Musa* spp. Extract on eggs and larvae of gastrointestinal nematodes from infected sheep. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 6, p. 3751-3757, 2015.

NIEZEN, J. H. et al. Growth and gastrointestinal parasitism in lambs grazing either lucerne (*Mediticago sativa*) or sulla (*Hedysarum coronarium*) which contains condensed tannins. **Journal of Agricultural Science**, v. 125, n. 2, p. 281-289, 1995.

NOGUEIRA, F.A. et al. Anthelmintic efficacy of banana crop residues on gastrointestinal nematodes of sheep: in vitro and in vivo tests. **Parasitology Research**, v. 111, n. 1, p. 317-323, 2012.

OIE. World Organization for Animal Health. **The world medicines situation 2014**. 2014.

OLIVEIRA, A. C. et al. Influência da dieta, sexo e genótipo sobre o perfil lipídico da carne de ovinos. **Archivos de Zootecnia**, v. 62, p. 57-72, 2013.

OLIVEIRA, L. S. T. et al. Uso de plantas medicinais no tratamento de animais. **Enciclopédia Biosfera**, v. 5, n. 8, 2009.

OSÓRIO, J. C. S.; OSÓRIO, M. T. M.; SAÑUDO, C. Características sensoriais da carne ovina, **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, p. 292-300, (suplemento especial), 2009.

PANEA, B.; RIPOLL, G.; JOY, M. Caracterización y agrupamiento de algunos tipos comerciales de cordero por su perfil sensorial. **Información Técnica Económica Agraria**, v. 109, n. 3, p. 303-318, 2013.

PARAUD, C. et al. Resistance of goat nematodes to multiple anthelmintics on a farm in France. **Veterinary Record**, v. 164, n. 18 p. 563-564, 2009.

PEREIRA, A.; MARASCHIN, M. Banana (*Musa spp*) from peel to pulp: ethnopharmacology, source of bioactive compounds and its relevance for human health. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 160, p. 149-163, 2015.

PEREIRA, G. A. **Estudo dos parâmetros de extração de compostos fenólicos e avaliação da atividade antioxidante in vitro da banana (*Musa sp.*)**. 2015. (Dissertação), Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, Brasil, 2015.

PEREIRA, R. H. M. A. et al. Diagnóstico da resistência dos nematoides gastrintestinais a anti-helmínticos em rebanhos caprino e ovino do RN. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 2, n. 1, p. 16-19, 2008.

PEGORARO, E. J. **Impacto do manejo da pastagem de azevém (*Lolium multiflorum* Lam.) sobre a contaminação larval e a infecção parasitária em ovinos**. 2008. 87 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

RAMOS, C. I. et al. Epidemiologia das helmintoses gastrintestinais de ovinos no Planalto Catarinense. **Ciência Rural**, v. 34, n. 6, p. 1889-1895, 2004.

RAMOS, M.; JUAREZ, M. Sheep milk. In: Fuquay, J.W. Fox, P.F. ;McSweeney, P.L.H. (eds.) **Encyclopedia of dairy sciences**, 2. ed., United Kingdom: Elsevier, United Kingdom, 2011. v.3, p. 494-502.

REZENDE, H. A.; COCCO, M. I. M. A utilização de fitoterapia no cotidiano de uma população rural. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 36, n. 3, p. 282-288, 2002.

RICHTER, A.; LÖSCHER, W. Phytotherapeutika. In: LÖSCHER, W.; UNGEMACH, F. R. KROKER, R. **Pharmakotherapie bei Haus-und Nutztieren**. 5. ed. Berlin, Wien: Parey Buchverlag, 2002. p.407-420.

RODRIGUES, A.G.; AMARAL, A. C. F. Aspectos sobre o desenvolvimento da fitoterapia. In: Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica **Práticas Integrativas e Complementares: plantas medicinais e fitoterapia na Atenção Básica**. Brasília: Ministério da Saúde, p.13-23, 2012.

SANGSTER, N. C.; GILL, J. Anthelmintic resistance: past, present and future. **International Journal for Parasitology**, v. 29, n. 1, p. 115-124, 1999a.

_____. Pharmacology of anthelmintic resistance. **Parasitology Today**, v.15, n. 4, p.141-146, 1999b.

SCZESNY-MORAES, E. A. et al. Resistencia anti-helmíntica de nematoides gastrintestinais em ovinos, Mato Grosso do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 3, p. 229-236, 2010.

SERRA, I. Coma Mais Banana. **Rio Total** - Revista Eletrônica do Rio, ano 16, semana 803, set. 2012.

SHALDERS, E.; et al. Percentual de suplementação de fonte taninífera na ração concentrada de caprinos jovens sobre o desempenho e carga parasitária. **Ciência Rural**, v. 44, p. 1100-1105, 2014.

SILVA, M. B. L.; RAMOS, A. M. Composição química, textura e aceitação sensorial de doces em massa elaborados com polpa de banana e banana integral. **Revista Ceres**, v. 56, n. 5, p. 551-554, 2009.

SINDICATO NACIONAL DA INDÚSTRIA DE PRODUTOS PARA A SAÚDE ANIMAL. **2013**. Disponível em: <<http://www.sindan.org.br/sd/sindan/index.html>>. Acesso em: 10 jan. 2018.

SMITH, J.; SONES, K.; GRACE, D.; MAcMILLAN, S.; TARAWALI, S.; HERRERO, M. Beyond milk, meat, and eggs: Role of livestock in food and nutrition security. **Animal Frontiers**, v. 3, p. 6-13, 2013.

TAYLOR, M. A.; COOP, R. L.; WALL, R. L. **Veterinary parasitology**. 3.ed. Oxford: Blackwell, 2007. 874 p.

TORRES-ACOSTA, J. F. J.; HOSTE, H. Alternative or improved methods to limit gastrointestinal parasitism in grazing sheep and goats. **Small Ruminant Research**, v. 77, n. 2-3, p. 159-173, 2008.

UENO, H.; GONÇALVES, P. C. **Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes**. 4.ed. Tóquio: Japan International Cooperation Agency, 1998. 145p.

URQUHART, G. M. et al. **Parasitologia veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. 306p.

VIANA, J. G. A.; SILVEIRA, V. C. P. cadeia produtiva da ovinocultura no Rio Grande do Sul. **Revista Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 2, n.1, p. 9-20, 2009.

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 do Brasil**. São Paulo: Merrial, 1997. 50 p.

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, 1999.

VIEIRA, L. S. Métodos alternativos de controle de nematoides gastrointestinais em caprinos e ovinos. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v. 2, n. 2, p.49-56, 2008.

YOSHIHARA, E.; MINHO, A. P.; YAMAMURA, M. H. Efeito anti-helmíntico de taninos condensados em nematódeos gastrintestinais de ovinos (*Ovis aries*). **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 6 Supl.2, p. 3935-3950, 2013.

WAGLAND, B. M. et al. A new simplified assay for larval migration inhibition. **International Journal for Parasitology**, v. 22, n. 2, p. 1183-1185, 1992.

WHO. World Health Organization - **The world medicines situation 2011**. Traditional medicines: global situation, issues and challenges. Geneva: WHO. 12p.

3. OBJETIVO GERAL

O presente estudo objetivou avaliar a ação anti-helmíntica do extrato hidroalcoólico do botão floral da bananeira (EHB) em ovos e larvas de helmintos gastrintestinais de ovinos.

3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar o efeito ovicida *in vitro* do extrato hidroalcoólico do botão floral da bananeira através do teste de eclodibilidade de ovos, sobre ovos de nematódeos gastrintestinais de ovinos.

Avaliar o efeito larvicida *in vitro* do extrato hidroalcoólico do botão floral da bananeira através do teste de inibição da migração larval, sobre larvas de nematódeos gastrintestinais de ovinos.

Avaliar a atividade antioxidante, teor de polifenóis totais, flavonoides e taninos condensados do extrato hidroalcoólico do botão floral da bananeira através do espectrofotômetro ultravioleta visível (UV-Vis).

4. ARTIGO: AÇÃO *in vitro* DO EXTRATO DO BOTÃO FLORAL DA BANANEIRA (*Musa spp.*) SOBRE NEMATÓDEOS GASTRINTESTINAIS DE OVINOS

4.1. RESUMO E ABSTRACT

4.1.1. Resumo

Uma alternativa para o controle de verminose na ovinocultura é a utilização de plantas bioativas. Diversos estudos têm relacionado plantas taniníferas com propriedades anti-helmínticas, com destaque para a bananeira (*Musa spp.*). Foram avaliadas a ação anti-helmíntica do extrato hidroalcoólico do botão floral da bananeira (EHB) a 10% em ovos e larvas de nematódeos gastrintestinais de ovinos, assim como sua atividade antioxidante. Foram utilizadas fezes de ovinos naturalmente infectados, selecionados com contagem mínima de 2.000 ovos por grama de fezes (OPG), e realizados testes de eclodibilidade de ovos (TEO) e teste da inibição da migração larval (TIML). Determinou-se teores de polifenóis totais, taninos condensados, flavonoides, e atividade antioxidante do extrato. Foram testadas cinco concentrações do EHB (20; 40; 80; 160 e 320 mg mL⁻¹), controle negativo com água destilada e controle positivo com sulfóxido de albendazol, em quadruplicada. Em relação ao TEO, o EHB inibiu 82,57% na concentração de 160 mg mL⁻¹, atingindo 100% na concentração de 320 mg mL⁻¹. Em relação ao TIML, o EHB inibiu 90,30% na concentração 80 mg mL⁻¹, 94,80% na concentração de 160 mg mL⁻¹, atingindo 100% na concentração de 320 mg mL⁻¹. O EHB (10 mg mL⁻¹) apresentou 0,38 mg EAG g⁻¹ de polifenóis totais, 372,70 mg EAT g⁻¹ de taninos, 0,42 mg RE g⁻¹ de flavonoides, e atividade antioxidante de 43,03% com IC₅₀ correspondendo à 0,2765 mg mL⁻¹. Dessa forma, foi possível verificar atividade anti-helmíntica e antioxidante do EHB, demonstrando o seu potencial no controle de verminose em ovinos.

Palavras-chave: agroecologia, banana, verminose, ovinocultura, taninos

4.1.2. Abstract

An alternative for the control of verminosis in sheep is the use of bioactive plants. Several studies have related tannins plants with anthelmintic properties, especially banana (*Musa spp.*). The anthelmintic action of the hydroalcoholic extract of the 10% banana leaf bud (HEB) was evaluated in eggs and larvae of sheep's gastrointestinal nematodes, as well as their antioxidant activity. Samples of naturally infected sheep were used with a minimum egg count of 2,000 eggs per gram of feces (EPG), and egg hatchability tests (EHT) and larval migration inhibition test (LMIT) were performed. Total polyphenols, condensed tannins, flavonoids, and antioxidant activity of the extract were determined. There were five concentrations of EHB (20; 40; 80; 160; and 320 mg mL⁻¹), negative control with distilled water and positive control with albendazole sulfoxide were tested in quadruplicate. In relation to EHT, HEB inhibited 82.57% in the concentration of 160 mg mL⁻¹, reaching 100% in the concentration of 320 mg mL⁻¹. In relation to LMIT, HEB inhibited 90.30% in the concentration 80 mg mL⁻¹, 94.80% in the concentration of 160 mg mL⁻¹, reaching 100% in the concentration of 320 mg mL⁻¹. The HEB (10 mg mL⁻¹)

presented 0.38 mg EAG g⁻¹ of total polyphenols, 372.70 mg EAT g⁻¹ of tannins, 0.42 mg RE g⁻¹ of flavonoids, and antioxidant activity of 43, 03% with IC 50 corresponding to 0.2765 mg mL⁻¹. Thus, it was possible to verify the anthelmintic and antioxidant activity of the HEB, demonstrating its potential in the control of verminosis in sheep.

Key-words: agroecology, banana, verminose, sheep, tannins

4.2 INTRODUÇÃO

O principal entrave da ovinocultura mundial, especificamente em regiões tropicais, é a presença de nematódeos gastrintestinais. Estima-se que cerca de 60% das perdas de produção são decorrentes da ação de parasitos (Costa et al., 2011).

A verminose provoca queda na produção dos animais infectados, incluindo menor ganho de peso, menor rendimento de carcaça, menor produção de leite, má qualidade da lã, baixa fertilidade e maior mortalidade (Pinheiro et al., 2000; Vieira, 2008). Segundo Amarante et al. (1997), o combate aos nematódeos gastrintestinais é baseado em tratamentos repetitivos com drogas anti-helmínticas e esse processo favorece o desenvolvimento de populações resistentes à essas drogas, aumentando os gastos com medicamentos.

Uma alternativa para o controle de verminose e redução da resistência medicamentosa é a utilização de plantas medicinais. O uso terapêutico das plantas tem despertado grande interesse da população, da comunidade científica e dos serviços de saúde nos últimos anos (Souza et al., 2013).

Estudos realizados com o objetivo de controlar parasitos e reduzir os impactos da resistência, têm relacionado diversas plantas taniníferas com propriedades anti-helmínticas, destacando-se a bananeira (*Musa spp.*) (Neuwirt et al., 2015; Nogueira et al., 2012). De acordo com Niezen et al. (1995) a utilização de plantas ricas em taninos condensados pode ser indicada como alternativa no controle de verminose em ovinos,

reduzindo o uso de produtos sintéticos, bem como os custos de produção. Dessa forma, o presente estudo objetivou avaliar a ação anti-helmíntica e atividade antioxidante do extrato hidroalcoólico do botão floral da bananeira (EHB) em nematódeos gastrintestinais de ovinos.

4.3 MATERIAL E MÉTODOS

Coleta e processamento do material vegetal

O botão floral da *Musa paradisiaca* foi coletado na Fazenda Escola da Universidade Estadual do Norte do Paraná, cidade de Bandeirantes, Paraná, Brasil (Latitude 23° 06' 28.6" Sul e Longitude 50° 21' 31.9" Oeste). A seleção foi realizada pela ausência de alterações macroscópicas como coloração, presença de insetos, aparência seca, em seguida acondicionado em sacos de polietileno. Este material foi higienizado em água corrente, pesado, seco em estufa com ventilação forçada de ar à 40 °C por 96 horas e moído em moinho de facas. A planta está registrada no Herbário da Universidade Estadual de Maringá (UEM) sob o número HUEM: 31695.

Para a confecção do extrato hidroalcoólico a 10%, foi utilizada metodologia semelhante à realizada por Rutherford and Powrie (1993), Hajhashemi, Ghannadi and Sharif (2003) and Boligon et al. (2009). Foi adicionado 30g do material vegetal, a 189 mL de álcool etílico absoluto 99,5% e 81 mL de água destilada. A extração foi realizada por agitação mecânica, com auxílio de agitador magnético, à temperatura ambiente por 24 horas, com subsequente filtração à vácuo, utilizando papel filtro (Whatman nº 3, 9.0 cm. Gramatura média (g/m²): 187). O material vegetal resultante deste processo foi submetido à extração por mais duas vezes, acrescentando-se a solução hidroalcoólica nas mesmas proporções acima descrita.

O extrato obtido foi concentrado em rotaevaporador (modelo: TE-211, Tecnal, Brasil) à temperatura de 60 °C e pressão de -400 a -500 mmHg durante 60 minutos e

posteriormente liofilizado (modelo: LJJ06, Científica, Brasil) à $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ e pressão de -150 mmHg .

Obtenção de ovos e larvas de nematódeos

Os protocolos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa no uso de Animais da Universidade Estadual do Norte do Paraná (CEUA-UENP), sob protocolo 14/2016, de 22 de novembro de 2016, e estão de acordo com os princípios éticos em experimentação animal vigentes na legislação Brasileira.

As fezes foram coletadas diretamente da ampola retal de ovinos das raças White Dorper, 3/4 White Dorper e 7/8 White Dorper, com idade entre 2 a 5 anos, fêmeas, naturalmente infectadas e ausentes de tratamento anti-helmínticos por pelo menos 60 dias. Esses animais foram provenientes do rebanho da Fazenda Escola da Universidade Estadual do Norte do Paraná.

Realizou-se contagem do número de ovos por grama de fezes (OPG) conforme Gordon and Whitlock (1939), para seleção das amostras a serem utilizadas nos testes *in vitro*. Foram selecionados cinco animais que apresentaram valores iguais ou superiores a 2.000 OPG. As larvas foram obtidas por meio de cultura de larvas conforme Roberts and O'Sullivan, (1950), a partir de pull de fezes dos 5 animais. Os gêneros identificados conforme Keith (1953), foram identificadas larvas de *Haemonchus* spp. (78%), *Trichostrongylus* spp. (10%) e *Cooperia* spp. (7%) e *Strongyloides* spp. (5%).

Para isolamento de ovos para o teste de eclodibilidade foi utilizada a metodologia descrita por Coles et al. (1992) adaptada por Bizimenyera et al. (2006). As amostras fecais foram homogeneizadas em 250 ml de água morna de torneira (40°C) e filtradas em tamises de diferentes aberturas (250; 150; 75 e 25 μm), em ordem decrescente, permanecendo os ovos retidos ao final na tamis de 25 μm . Após lavagem com água morna, o material obtido foi transferido para um tubo cônico de centrífuga, completado

com água destilada e centrifugado a 3000 giros durante 5 minutos. Após, foi descartado o sobrenadante e os tubos foram preenchidos com solução saturada de cloreto de sódio (NaCl) com densidade de 1,20 g/mL, para suspensão dos ovos, novamente centrifugado a 3000 giros durante 5 minutos. O sobrenadante foi filtrado no tamis de 25 µm e para a retirada dos resíduos de NaCl, o sobrenadante foi novamente lavado e filtrado em água morna, em seguida armazenado em refrigeração à 6 °C por 24 horas.

Teste de eclodibilidade de ovos (TEO)

O teste de eclodibilidade de ovos foi realizado segundo metodologia descrita por Von Samson-Himmelstjerna, Coles and Jackson (2009). Utilizando placa para cultura de células, contendo 24 poços, foram alocados em média de 110 a 120 ovos em cada poço, e submetidos ao EHB nas concentrações de 20, 40, 80, 160, 320 mg mL⁻¹. A água destilada foi utilizada como controle negativo (CN) e sulfóxido de albendazol (200 µg mL⁻¹) como controle positivo (CP), avaliados em quadruplicada.

Para avaliação de cada tratamento, foi acrescentado nas placas de cultura 100 µL da suspensão água e ovos, e 400 µL dos respectivos tratamentos. As placas foram mantidas em incubadora de demanda biológica de oxigênio (B.O.D.) (modelo: TE-371, Tecnal, Brasil) à 27 °C, por 48 horas. Após esse período, os ovos e larvas eclodidas de primeiro estágio (L1) foram quantificadas.

Os resultados foram avaliados de acordo com o percentual de redução larval (%LR) usando a fórmula: $Eficácia(\%) = [Mo / (ML+MO) \times 100]$, onde MO representa a contagem de ovos no tratamento e ML contagem de larvas no tratamento. Foi empregada uma regressão não linear para determinar as concentrações do extrato suficiente para inibir 50% (CL₅₀) e 90% (CL₉₀) de incubação de ovos.

Teste de inibição da migração larval (TIML)

O teste de inibição da migração larval foi realizado segundo metodologia descrita por Rabel, Mcgregor and Douch (1994). Foram utilizadas larvas de terceiro estágio (L₃) recém obtidas das culturas de larvas de ovinos da Fazenda Escola da Universidade Estadual do Norte do Paraná, que não recebiam tratamento antiparasitário há no mínimo 60 dias.

Para o desembainhamento das larvas foi realizado segundo metodologia descrita por BAHUAUD et al. (2006). As larvas foram mantidas em tubo cônico de centrífuga com 50 $\mu\text{L mL}^{-1}$ de hipoclorito de sódio à 12 %, homogeneizando lentamente por 5 minutos. Para a retirada dos resíduos de hipoclorito, foi preenchido o tubo cônico de centrífuga com água destilada e centrifugado a 3.000 giros por 3 minutos, foi retirado o sobrenadante e acrescentado água destilada novamente. Esse processo foi realizado por mais três vezes e as larvas foram quantificadas para que houvesse aproximadamente 200 larvas em 50 μL de solução de larvas.

A quantificação foi realizada analisando 20 amostras de 10 μL contendo solução de larvas, depois foram acondicionadas em placas de cultura de 24 poços. Em seguida, adicionou-se 950 μL dos respectivos tratamentos: EHB 20, 40, 80, 160 e 320 mg mL^{-1} , CN com água destilada e CP com 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de sufóxido de albendazol, avaliados em quadruplicada.

Após o acondicionamento em incubadora de demanda bioquímica de oxigênio (B.O.D.) durante 16 horas a 27 °C, os respectivos tratamentos foram colocados sobre malha de abertura de 25 μm para avaliação da migração das larvas. Após nova incubação, nas condições descritas anteriormente, porém por 24 horas, procedeu-se contagem das larvas por microscopia óptica com aumento de 100 vezes. A porcentagem de migração foi calculada por meio da fórmula migração(%) = $[\text{NM} / (\text{NM} + \text{NR})] \times 100$, onde NM é

o número de larvas L3 migradas através da malha e NR é o número de larvas L3 retidas na malha.

Para análises estatísticas, os dados para se obter a curva dose-resposta foram ajustados ao modelo de regressão não linear proposto por Streibig (1988). Para o Teste de Eclodibilidade de Ovos e Teste da Inibição da Migração Larval:

$$y = \frac{a}{1 + \left(\frac{x}{b}\right)^c}$$

Em que:

y = porcentagem de inibição da eclodibilidade de ovos e inibição da migração larval;

x = concentração do EHB, e;

a, b e c = parâmetros estimados da equação, de tal forma que:

a = amplitude existente entre o ponto máximo e o ponto mínimo da variável;

b = dose que proporciona 50% de resposta da variável;

c = declividade da curva ao redor de b.

De acordo com a fórmula proposta por Streibig (1988), valores de b correspondem à concentração necessária para inibir 50% da eclodibilidade de ovos e inibição da migração larval. Desta maneira, valores muito baixos b demonstram tendência a susceptibilidade dos ovos e larvas avaliados ao extrato testado, e quanto maior o valor de b, menor a susceptibilidade dos ovos e larvas ao extrato.

Análises do extrato

Os teores de taninos condensados, polifenóis totais, flavonoides e atividade antioxidante foram determinados por espectrofotômetro ultravioleta visível (UV-Vis) (modelo: UV-M51, BEL Engineering, Itália). As análises foram realizadas em triplicada nas concentrações de 2.5, 4, 5.5, 7, 8.5 e 10 mg.mL⁻¹. O teor de taninos condensados foi expresso em mg de equivalente em ácido tânico por grama do extrato (mg EAT g⁻¹) (Fagbemi, Oshodi and Ipinmoroti, 2005).

Para determinação de polifenóis totais, utilizou-se o método de *Folin-Ciocalteu*, utilizando ácido gálico como padrão de comparação (Stagos et al., 2012). Os resultados foram expressos em mg de equivalente em ácido gálico por grama de extrato seco (mg EAG g⁻¹). O ácido gálico possui estrutura simples e é precursor de vários compostos fenólicos, sendo assim considerado substância de escolha como padrão.

A determinação dos teores de flavonoides totais foi baseada na complexação dos flavonoides com o cloreto de alumínio (Zhishen; Mengcheng, 1999), e os resultados foram expressos em mg de rutina por grama de extrato seco (mg RE g⁻¹).

A atividade antioxidante foi determinada pelo método da inibição da oxidação do radical DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil) (Blois, 1958), sendo determinada adicionalmente, a capacidade do extrato para inibir a oxidação do radical DPPH em 50% (IC₅₀).

4.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

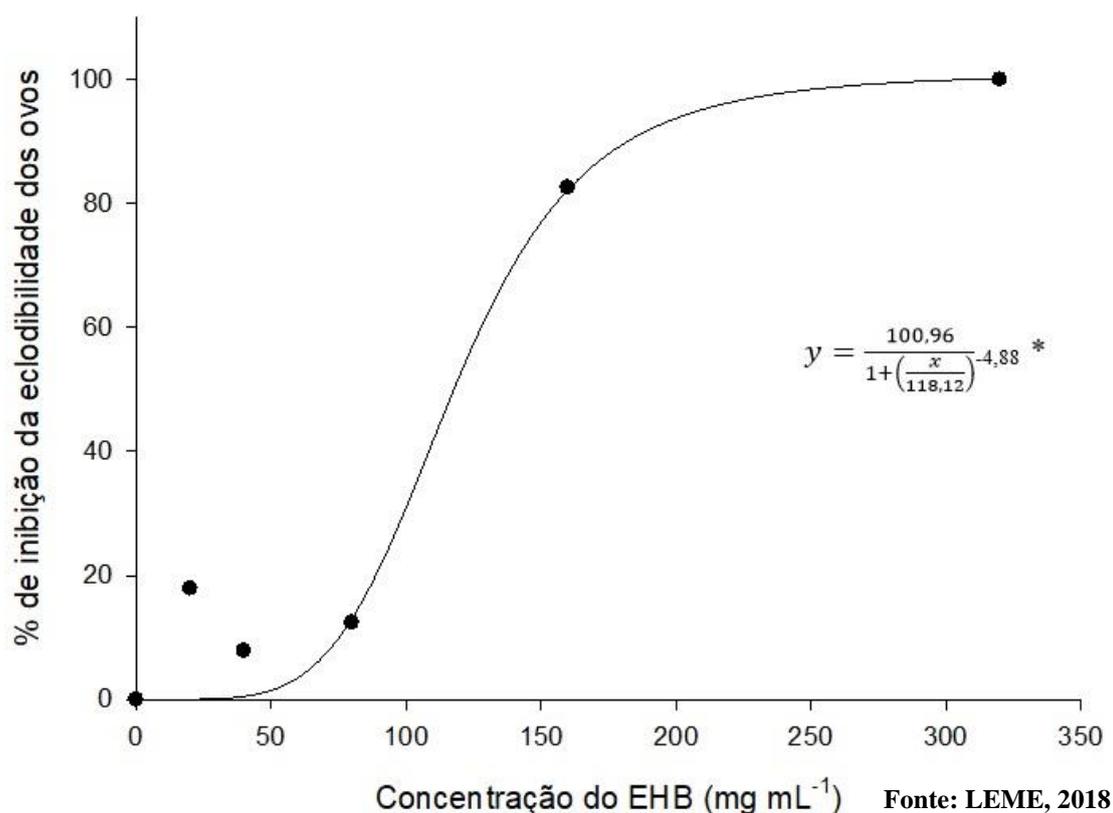
No teste de inibição da eclodibilidade de ovos o EHB inibiu 82,57% na concentração de 160 mg mL⁻¹, atingindo 100% na concentração de 320 mg mL⁻¹ (gráfico 1), igualando aos 100% apresentados pelo controle positivo (tabela 1). O controle negativo apresentou 96,60% de eclodibilidade dos ovos.

Tabela 1: Valores referentes à média da % de inibição da eclodibilidade de ovos e desvio padrão, para as diferentes concentrações em mg mL⁻¹ do extrato hidroalcoólico do botão floral da bananeira a 10% (EHB).

| Concentração do extrato (mg mL ⁻¹) | Média da % de inibição | Desvio Padrão |
|---|---------------------------|---------------|
| CN* | 3,4 | 0,94 |
| CP* | 100 | 0 |
| 20 | 17,91 | 12,02 |
| 40 | 7,825 | 2,87 |
| 80 | 12,37 | 2,54 |
| 160 | 82,57 | 8,12 |
| 320 | 100 | 0 |

*CN: controle negativo; *CP: controle positivo

Gráfico 1. Inibição da eclodibilidade de ovos proporcionado pelo extrato hidroalcoólico do botão floral da bananeira.



*Estimativas dos parâmetros a, b e c e do coeficiente de determinação (R²) do modelo log-logístico, ajustados para o controle de inibição da eclodibilidade de ovos. R²: 0,95

Resultados semelhantes foram descritos por Neuwirt et al., (2015), que, utilizando extrato hidroalcolico de folhas frescas de *Musa* spp., verificaram inibição da eclodibilidade de ovos de nematódeos de ovinos em 98,55% na dosagem de 160 mg mL⁻¹ e 100% na concentração de 180 mg mL⁻¹.

Ainda avaliando o potencial anti-helmíntico de *Musa* spp., Nogueira et al. (2012) observaram eficácia de 100% na inibição da eclodibilidade de ovos de *Haemonchus contortus*, utilizando extrato aquoso da folha, pseudocaule e botão floral da bananeira na concentração de 10 mg mL⁻¹, entretanto, obtiveram inibições acima de 95% nas concentrações 2,5 mg mL⁻¹; 5,0 mg mL⁻¹ e 10,0 mg mL⁻¹. Segundo esses autores, os metabolitos da banana inibem a embriogênese desses nematódeos e, portanto, reduzem as taxas de eclodibilidade. Os valores das concentrações foram mais baixos do que as encontradas nesse estudo. Essa diferença pode estar relacionada com o local de produção da bananeira como topografia, clima, altitude, época do ano, diferenças entre espécies, composição bromatológica do botão floral, composição do extrato e método de extrato (Morais, 2009; Gobbo-Neto and Lopes, 2007).

As concentrações de 20, 40 e 80 mg mL⁻¹ não tiveram diferença significativa e suas CL (concentração letal) não apresentaram 50% de inibição, o que não é relevante para o presente estudo. As CL₅₀ e CL₉₀ do EHB foram 117 e 182 mg mL⁻¹, respectivamente.

No teste de inibição da migração larval o EHB inibiu 90,30% na concentração 80 mg mL⁻¹, 94,80% na concentração de 160 mg mL⁻¹, atingindo 100% na concentração de 320 mg mL⁻¹ (gráfico 2). O CN apresentou 94,8% de migração larval e o CP atingiu 91% da inibição (tabela 2).

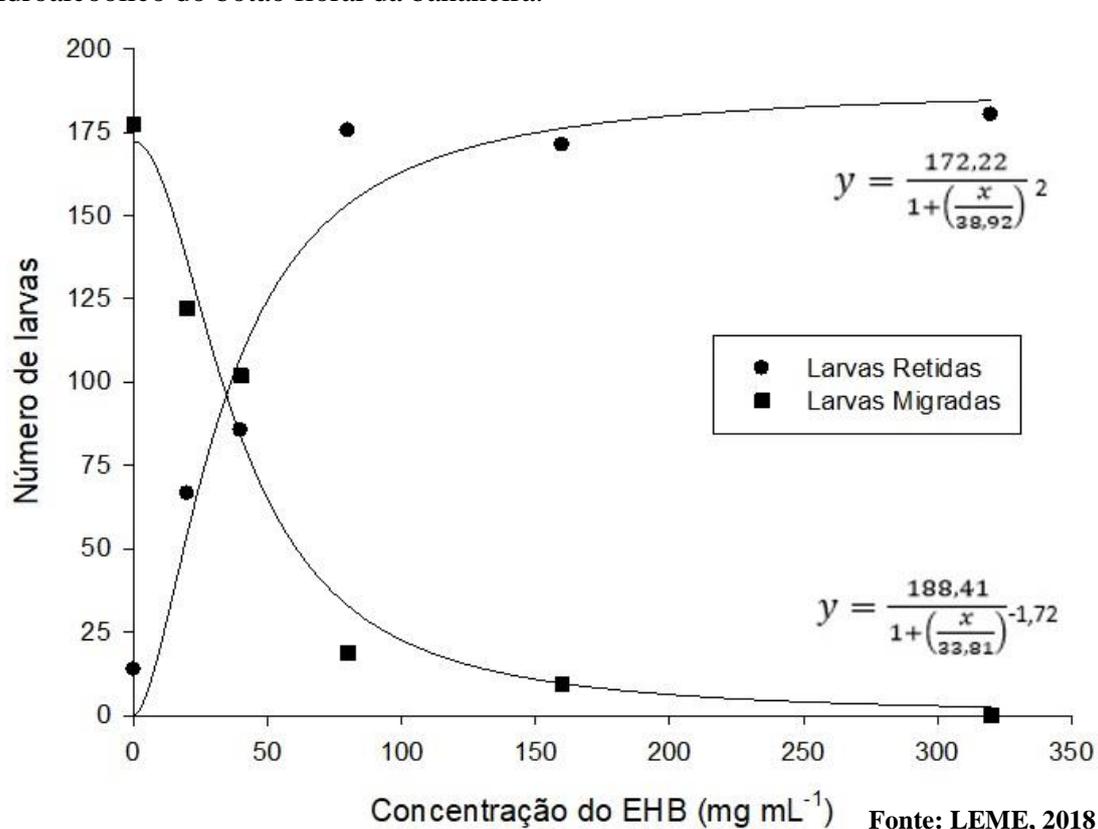
Os resultados corroboraram com outros pesquisadores que também registraram ação inibitória de plantas taniníferas sobre migração de larvas de nematódeos de ovinos (Bizimenyera et al., 2006; Maciel et al., 2006; Yoshihara et al., 2014).

Tabela 2: Valores referentes à média da % de inibição da migração larval e desvio padrão, para as diferentes concentrações em mg mL⁻¹ do extrato hidroalcoólico do botão floral da bananeira a 10% (EHB).

| Concentração do extrato (mg mL ⁻¹) | Média da % de inibição | Desvio padrão |
|---|---------------------------|---------------|
| CN* | 5,2 | 0,98 |
| CP* | 91 | 1,85 |
| 20 | 37,95 | 2,47 |
| 40 | 45,19 | 2,26 |
| 80 | 90,3 | 1,22 |
| 160 | 94,8 | 1,15 |
| 320 | 100 | 0 |

*CN: controle negativo; *CP: controle positivo

Gráfico 2. Número de larvas migradas e larvas retidas nas concentrações do extrato hidroalcoólico do botão floral da bananeira.



*Estimativas dos parâmetros a, b e c e do coeficiente de determinação (R^2) do modelo log-logístico, ajustados para o número de larvas migradas e retidas, R^2 : 0,96 e 0,93, respectivamente.

As concentrações de 20 e 40 mg mL⁻¹ não tiveram diferença significativa e suas CL (concentração letal) não apresentaram 50% de inibição, o que não é relevante para o presente estudo. As CL₅₀ e CL₉₀ do EHB foram 45 e 79 mg mL⁻¹, respectivamente.

Neuwirt et al. (2015) utilizando extrato hidroalcoólico de folhas frescas de *Musa* spp. constataram valores de 100% de inibição nas concentrações de 800 mg mL⁻¹ e 1.000 mg mL⁻¹, doses muito superiores as usadas nesse estudo. Deve-se levar em consideração que os extratos foram produzidos a partir de partes diferentes da planta.

Nery et al. (2012) utilizando extrato aquoso de frutos imaturos de *Musa indica* var. constataram eficácia superior a 90% na inibição do desenvolvimento larval de nematódeos de ovinos.

Resultados opostos ao encontrados neste estudo foram observados por Marie-Magdeleine et al. (2014), testando três diferentes extratos (água, álcool metílico e diclorometano), produzidos a partir das folhas e o caule de *M. paradisiaca*, relataram alta taxa de migração, no qual não diferiram do controle negativo.

Yoshihara et al. (2014) utilizaram 100 mg.mL⁻¹ de extrato comercial de *Acacia mearnsii* e verificaram 97,1% de inibição da migração larval, valores semelhantes aos encontrados nesse estudo quando comparados a porcentagem de inibição da migração larval. Yoshihara, Minho and Yamamura (2013), trabalhando com adultos de *Haemonchus* sp. constataram o efeito dos taninos condensados utilizando microscopia eletrônica de varredura. Foi observada a presença de rugas transversais na cutícula em toda a extensão corporal e presença de rupturas da cutícula, com aparente extravasamento de material interno.

Importante ressaltar que diferente do controle positivo, o EHB pode ser utilizado em produção orgânica, agroecológicos e biodinâmicos de produção, cujo uso de parasiticidas sintéticos não é permitido.

Em relação às análises do extrato, o EHB apresentou maiores teores de polifenóis totais na dosagem de 10 mg mL^{-1} , que correspondeu a $0,38 \text{ mg}$ equivalente de ácido gálico por grama de extrato (tabela 3).

Tabela 3: Valores médios referentes à polifenóis totais, taninos condensados, flavonoides e atividade antioxidante para as diferentes concentrações em mg mL^{-1} do extrato hidroalcoólico do botão floral da bananeira a 10% (EHB).

| Concentração do extrato (mg mL^{-1}) | Polifenóis totais* | Taninos* condensados | Flavonoides* | Atividade antioxidante |
|---|--------------------|----------------------|--------------|------------------------|
| 2,5 | 0,11 | 54,25 | 0,04 | 10,13 |
| 4 | 0,15 | 116,04 | 0,07 | 16,20 |
| 5,5 | 0,20 | 195,08 | 0,13 | 22,35 |
| 7 | 0,27 | 272,94 | 0,22 | 28,73 |
| 8,5 | 0,30 | 332,70 | 0,34 | 35,05 |
| 10 | 0,38 | 372,70 | 0,42 | 43,03 |

*Valores expressos por mg de extrato seco.

Os teores de taninos condensados foram de $54,25 \text{ mg}$ equivalente de ácido tânico por grama de extrato a partir da dosagem de $2,5 \text{ mg mL}^{-1}$, atingindo $372,70 \text{ mg}$ equivalente de ácido tânico por grama de extrato a partir da dosagem de 10 mg mL^{-1} . A atividade do extrato pode estar relacionada aos teores de taninos condensados. De acordo com Olivo et al. (2007), a atividade anti-helmíntica das folhas de bananeira é possivelmente devido aos taninos encontrados em seus cultivares. O tanino condensado pode interagir com as proteínas na cutícula do nematódeo, evitando a degradação das proteínas de maior valor biológico não sejam degradadas e utilizadas pela microbiota

ruminal, sendo estes complexos dissociados no intestino delgado, local de absorção dos aminoácidos (Min and Hart, 2003; Waghorn, 2008).

Manolariki et al. (2010) utilizaram ovinos infectados com *Haemonchus contortus* e *Trichostrongylus colubriformis* para testar ação anti-helmíntica dos taninos condensados presentes em *Ceratonia siliqua*, *Quercus coccifera* e *Pistacia lentiscus*. Esses autores observaram redução na eliminação de ovos devido principalmente a diminuição da fecundidade das fêmeas de ambas as espécies.

Son-de Fernex et al. (2012) avaliaram a atividade anti-helmíntica de cinco plantas contendo taninos condensados, demonstrando que houve efeito inibitório sobre a motilidade e desembainhamento de larvas de *Haemonchus contortus*. Hoste et al. (2012) avaliaram o efeito anti-helmíntico de *Onobrychis viciifolia* e *Lysiloma latisiliquum* a partir dos taninos condensados, observaram *in vitro*, efeitos como redução de eclodibilidade, inibição do desenvolvimento e motilidade de larvas e adultos.

Quanto aos teores de flavonoides, na concentração de 10 mg mL^{-1} , observou-se 0,42 mg equivalente de rutina por grama de extrato. Flavonoides podem apresentar ação antimicrobiana, devido formação de complexos da parede bacteriana com proteínas solúveis e também ao rompimento e destruição das membranas microbianas (Soldera, Zanella and Frasson, 2010). Este fato pode ser de grande importância considerando a possibilidade da ocorrência de infecções bacterianas secundárias devido às parasitoses gastrintestinais. A atividade antioxidante dos flavonoides atua no controle da produção de radicais livres (Sousa et al., 2007).

A atividade antioxidante correspondeu a 43,03% na concentração de 10 mg mL^{-1} , com IC_{50} correspondendo a $0,2765 \text{ mg mL}^{-1}$. Sobre a atividade antioxidante do EHB, observada na Tabela 1, foi possível verificar $\text{IC}_{50} = 276,5 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$. Esses resultados foram 17 vezes superiores ao encontrado no ácido ascórbico ($\text{IC}_{50} = 4,900 \text{ } \mu\text{g}$

mL⁻¹) (Ilha et al., 2008), sendo esta uma vitamina reconhecida como potente antioxidante utilizada como referência por vários autores (Kim et al., 2015; Coenraads et al., 2016).

Os antioxidantes encontrados nas plantas podem agir como agentes, seqüestradores de radicais livres, inibidores de enzimas, redutores e/ou como quelantes de metais (Wang and Lin, 2000).

4.5 CONCLUSÃO

O EHB apresenta atividade anti-helmíntica *in vitro*, demonstrando potencial no controle parasitológico de nematódeos gastrintestinais. O efeito anti-helmíntico pode ser devido a presença dos taninos condensados presentes na *Musa paradisíaca*.

AGRADECIMENTO

Os autores agradecem a CAPES pela concessão da bolsa resultando no término deste trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARANTE, A. F. T. et al. Host specificity of sheep and cattle nematodes in São Paulo state, Brazil. **Veterinary Parasitology**, 73(1-2):89-104, 1997.

BAHUAUD, D. et al. Effects of four tanniferous plant extracts on the *in vitro* exsheathment of third-stage larvae of parasitic nematodes. **Parasitology**, 132(4): 545-554, 2006

BIZIMENYERA, E. S. et al. *In vitro* activity of *Peltophorum africanum* Sond. (Fabaceae) extracts on the egg hatching and larval development of the parasitic nematode *Trichostrongylus colubriformis*. **Veterinary Parasitology**, 142(3-4):336-343, 2006.

BLOIS, M. S. Antioxidant determination by the use of stable free radical. **Nature**, 181(4617): 1199-1200, 1958.

BOLIGON A. A. et al. Antioxidant activities of flavonol derivatives from the leaves and stem bark of *Scutia buxifolia* Reiss. **Bioresource Technology**, 100(24):6592-6598, 2009.

COENRAADS, P. et al. The role of the antioxidante ascorbic acid in the elicitation of contact allergic reactions to p-phenylenediamine. **Contact Dermatitis**, 74(5):267-272, 2016.

COLES, G. C. et al. 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**, 44(1-2):35-44, 1992.

COSTA, K. M. F. M. et al. Efeitos do tratamento com closantel e ivermectina na carga parasitária, no perfil hematológico e bioquímico sérico e no grau de ovinos infectados com nematódeos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 31(12):1075-1082, 2011.

FAGBEMI, T. N.; OSHODI, A. A.; IPINMOROTI, K. O. Processing effects on some antinutritional factors and in vitro multienzyme protein digestibility (IVPD) of three tropical seeds: breadnut (*Artocarpus altilis*), cashewnut (*Anacardium occidentale*) and fluted pumpkin (*Telfairia occidentalis*). **Pakistan Journal of Nutrition**, 4(4):250-256, 2005.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas Medicinais: Fatores de Influência no Conteúdo de Metabólitos Secundários. **Química. Nova**, 30(2):374-381, 2007.

GORDON, H. M.; WHITLOCK, H. V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **Journal of the council for Scientific and Industrial Research**, 12(1):50-52, 1939.

HOSTE, H. et al. Direct and indirect effects of bioactive tannin-rich tropical and temperate legumes against nematode infections. **Veterinary Parasitology**, 186(1-2):18-27, 2012.

HAJHASHEMI, V.; GHANNADI, A.; SHARIF, B. Anti-inflammatory and analgesic properties of the leaf extracts and essential oil of *Lavandula angustifolia* Mill. **Journal of Ethnopharmacology**. 89(1):67-71, 2003.

ILHA, S. M. et al. Estudo fitoquímico de goiaba (*Psidium guajava* L.) com potencial antioxidante para o desenvolvimento de formulação fitocósmética. **Brasilian Journal of Pharmacognosy**; 18(3):387-393, 2008.

KEITH R. K. The differentiation of the infective larvae of some common nematode parasites of cattle. **Australian Journal of Zoology**; 1(2): 223-235, 1953.

KIM, J. Y. et al. Antioxidant properties of ascorbic acid in bulk oils at different relative e humidity. **Food Chemistry**; 176(1):302-307, 2015.

MACIEL, M. V. et al. Ovicidal and larvicidal activity of *Melia Azedarach* extracts on *Haemonchus contortus*. **Veterinary Parasitology**, 140(1-2):98-104, 2006.

MANOLARAKI F. Anthelmintic activity of some Mediterranean browse plants against parasitic nematodes. **Parasitology**, 137(4):685-696, 2010.

MARIE-MAGDELEINE, C. et al. *In vitro* effects of *Musa x paradisiaca* extracts on four developmental stages of *Haemonchus contortus*. **Research in Veterinary Science**, 96(1):127-132, 2014.

MIN, B. R.; HART, S. P. Tannin for suppression of internal parasites. **Journal of Animal Science**, 81(14):102-109, 2003.

MORAIS, L. A. S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**, 27(2):4050-4063, 2009.

NERY, P. S. et al. Efficacy of extracts of immature mango on ovine gastrointestinal nematodes. **Parasitology Research**, 111(6):2467-2471, 2012.

NEUWIRT, N. et al. Effect of *Musa* spp. Extract on eggs and larvae of gastrointestinal nematodes from infected sheep. **Semina: Ciências Agrárias**, 36(6):3751-3757, 2015.

NIEZEN, J. H. et al. Growth and gastrointestinal parasitism in lambs grazing either lucerne (*Mendicato sativa*) or sulla (*Hedysarum coronarium*) which contains condensed tannins. **Journal of Agricultural Science**, 125(2):281-289, 1995.

NOGUEIRA, F. A. et al. Anthelmintic efficacy of banana crop residues on gastrointestinal nematodes of sheep: in vitro and in vivo tests. **Parasitology Research**; 111(1):317-323, 2012.

OLIVO C. J. et al. Uso da bananeira (*Musa* spp.) no controle de parasitas de animais domésticos: do empirismo à ciência. **Livestock Research for Rural Development**. 19(11), 2007. Available in: <<http://www.lrrd.org/lrrd19/11/oliv19158.htm>> Access in: January, 30, 2018.

PINHEIRO, R. R. et al. Aspectos epidemiológicos na caprinocultura cearense. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 52(5):534-543, 2000.

RABEL, B.; MCGREGOR, R.; DOUCH, P. G. Improved bioassay for estimation of inhibitory effects of ovine gastrointestinal mucus and anthelmintics on nematode larval migration. **International Journal for Parasitology**, 24(5):671-676, 1994.

ROBERTS, F. H. S.; O'SULLIVAN, P. J. Methods for egg counts and larval cultures for strongyles infesting the gastro-intestinal tract of cattle. **Australian Journal of Agricultural Research**, 1(1):99-102, 1950.

RUTHERFORD, M. C.; POWRIE, L. W. Allelochemic control of biomass allocation in interacting shrub species. **Journal of Chemical Ecology**, 19(5):893-906, 1993.

SOLDERA, C. C.; ZANELLA, G. N.; FRASSON, A. P. Z. Avaliação da atividade antibacteriana de *Croton urucurana*. **Revista Contexto Saúde**, 10(19):25-31, 2010.

SON-DE FERNEX, E. V. et al. *In vitro* anthelmintic of five tropical legumes on the exsheathment and motility of *Haemonchus contortus* infective larvae. **Experimental Parasitology**, 131(4):413-418, 2012.

- SOUSA, C. M. M. et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, 30(2):351-355, 2007.
- SOUZA, C. M. P. et al. Utilização de plantas medicinais com atividade antimicrobiana por usuários do serviço público de saúde em Campina Grande-Paraíba. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, 15(2):188-193, 2013.
- STAGOS, D. et al. Correlation of total polyphenolic content with antioxidant and antibacterial activity of 24 extracts from Greek domestic *Lamiaceae* species. **Food and Chemical Toxicology**, 50(11): 4115-4124, 2012.
- STREIBIG, J. Herbicide bioassay. **Weed Research**, 28(6):479-484, 1988.
- VIEIRA, L. S. Métodos alternativos de controle de nematoides gastrointestinais em caprinos e ovinos. **Revista Tecnologia & Ciência Agropecuária**, 2(2):49-56, 2008.
- VON SAMSON-HIMMELSTJERNA, G.; COLES, G. C.; JACKSON, F. Standardization of egg hatch test for the detection of benzimidazole resistance in parasitic nematodes. **Parasitology Research**, 105(3):825-834, 2009.
- WAGHORN, G. Beneficial and detrimental effects of dietary condensed tannins for sustainable sheep and goat production - Progress and Challenges. **Animal Feed Science and technology**, 147(1-3):116-139, 2008.
- WANG, S. Y.; LIN, H. S. Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 48(2):140-146, 2000.
- WOOD, I. B. et al. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) second edition of guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in ruminants (bovine, ovine, caprine). **Veterinary Parasitology**, 58(3):181-213, 1995.
- YOSHIHARA, E. et al. *In vitro* ovicidal and larvicidal activity of condensed tannins on gastrointestinal nematode infestations in sheep (*Ovis aries*). **Semina: Ciências Agrárias**, 35(6):3173-3180, 2014.
- YOSHIHARA, E.; MINHO, A. P.; YAMAMURA, M. H. Efeito anti-helmíntico de taninos condensados em nematódeos gastrintestinais de ovinos (*Ovis aries*). **Semina: Ciências Agrárias**, 34(6):3935-3950, 2013.
- ZHISHEN, J.; MENGCHENG, T. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food Chemistry**, 64(4):555-559, 1999.

APÊNDICE

APÊNDICE A – COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE DO PR
COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS- CEUA UENP
PORTARIA 266/2016

DECLARAÇÃO 14/2016

Certificamos que o Projeto SECAPEE nº 4001 SEGURANÇA ALIMENTAR E EFICIÊNCIA PRODUTIVA EM SISTEMAS AGROECOLÓGICOS E ORGÂNICOS DE PRODUÇÃO: UTILIZAÇÃO DE PLANTAS MEDICINAIS NO CONTROLE PARASITOLÓGICO ANIMAL, sob a responsabilidade da Prof. ERIKA COSENDEY TOLEDO DE MELLO PEIXOTO está de acordo com os PRINCÍPIOS ÉTICOS DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL vigentes na legislação Brasileira e foi aprovado pelo Comitê de Ética no uso de Animais da Universidade Estadual do Norte do Paraná (CEUA-UENP).

(We certify that the research FOOD SECURITY AND PRODUCTIVE EFFICIENCY IN AGROECOSYSTEMS AND ORGANIC PRODUCTION: USE OF MEDICINAL PLANTS FOR PARASITOLOGICAL ANIMAL CONTROL. agrees with Brazilian ethical principles in animal research and was approved by the ETHICAL COMMISSION OF UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE DO PARANÁ having been approved by its reporters.)

Bandeirantes, 22 de novembro de 2016.

Profa. Mariza Fordellone Rosa Cruz
Coordenação CEUA

Prof. Cristiano Massao Tashima
Vice- Coordenação Ceua/ Biotério