



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE DO PARANÁ

CAMPUS LUIZ MENEGHEL

CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

FLÁVIO MARCEL FERREIRA GONÇALVES

POTENCIAL ANTI-HELMÍNTICO DO *Fagopyrum esculentum* MOENCH *in vitro*

**BANDEIRANTES, PR, BRASIL
2016**

FLÁVIO MARCEL FERREIRA GONÇALVES

POTENCIAL ANTI-HELMÍNTICO DO *Fagopyrum esculentum* MOENCH *in vitro*

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

Orientadora: Prof.^a Pós-Doc. Erika Cosendey
Toledo de Mello Peixoto

**BANDEIRANTES, PR, BRASIL
2016**

Gonçalves, Flávio Marcel Ferreira
G6826p Potencial anti-helmintico do *Fagopyrum esculentum* Moench *in vitro* / Flávio Marcel Ferreira Gonçalves. – Bandeirantes, 2016.
40f. ilust.

Orientador: Prof. Pos-Doc. Erika Consendey Toledo de Mello Peixoto.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Norte do Paraná, *Campus* Luiz Meneghel, 2016.

Banca: Dr. Regildo Márcio Gonçalves da Silva, Dr. Eidi Yoshihara, Dr. Petrônio Pinheiro Porto, Dr^a. Liza Ogawa, Dr. Flávio Haragushiku Otomura.

1. Agroecologia. 2. Nematódeos gastrointestinais. 3. Ovino. 4. Trigo mourisco. 5. Verminose. I. Universidade Estadual do Norte do Paraná. II. Título.

CDD – 636.3:633.11

FLÁVIO MARCEL FERREIRA GONÇALVES

POTENCIAL ANTI-HELMÍNTICO DO *Fagopyrum esculentum* MOENCH *in vitro*

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

Aprovada em: 28/03/2016

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. ^a Pós-Doc. Erika Cosendey Toledo de Mello Peixoto	UENP
Prof. Dr. Regildo Márcio Gonçalves da Silva	UNESP
Dr. Eidi Yoshihara	APTA
Prof. Dr. Petrônio Pinheiro Porto	UENP
Prof. ^a Dr. ^a Liza Ogawa	UENP
Prof. Dr. Flávio Haragushiku Otomura	UENP

Prof.^a Pós-Doc. Erika Cosendey Toledo de Mello Peixoto
Orientadora
Universidade Estadual do Norte do Paraná
Campus Luiz Meneghel

DEDICATÓRIA

Aos meus familiares, em especial meus pais
Mauro e Vania, que sempre me apoiaram em
todos os momentos na minha vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família pelo suporte, carinho e estímulo a prosseguir nessa jornada.

À minha namorada Angélica Laís Sarmiento pelo apoio incondicional e pela força que sempre me deu desde a graduação.

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

Aos professores da Graduação em Agronomia e do Programa de Mestrado em Agronomia da UENP por todo o conhecimento recebido nesses anos de universidade.

À minha orientadora, Prof.^a Erika Cosendey Toledo de Mello Peixoto, por ter me estimulado a prestar o mestrado, por todos os ensinamentos, paciência, confiança e sabedoria transmitidos a mim.

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.

À Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, *Campus* de Assis, em especial Prof. Dr. Regildo Márcio Gonçalves da Silva pela parceria na realização dos procedimentos laboratoriais

À Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Polo Alta Sorocabana, em especial Dr. Eidi Yoshihara pela parceria e por ter me acolhido durante uma semana para aprendizado de técnicas.

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

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!

GONÇALVES, Flávio Marcel Ferreira. **Potencial anti-helmíntico do *Fagopyrum esculentum* Moench in vitro**. 2016. Dissertação de Mestrado em Agronomia – Universidade Estadual do Norte do Paraná, *Campus* Luiz Meneghel, Bandeirantes, 2016.

RESUMO

Um dos fatores limitantes da ovinocultura é a infecção por helmintos, que resulta em baixo ganho de peso. A combinação de estratégias de controle parasitário, incluindo a utilização de fitoterápicos, pode reduzir o uso de anti-helmínticos químicos. Plantas taníferas, por apresentarem compostos fenólicos, principalmente taninos condensados, foram associadas à ação anti-helmíntica. O trigo mourisco possui alto teor de lisina, e o efeito no controle dos helmintos possivelmente se deve ao seu nível proteico. O presente trabalho objetivou realizar revisão bibliográfica sobre o *Fagopyrum esculentum* Moench e avaliar, *in vitro*, o potencial anti-helmíntico do extrato hidroalcoólico de suas sementes (EHATM) em nematódeos gastrintestinais de ovinos. Trigo mourisco pode ser utilizado como adubo verde, sendo importante opção para cobertura de solo e reciclagem de nutrientes, assim como uma alternativa para grãos e forragem. No florescimento, a planta pode representar fonte de alimento para predadores de insetos indesejáveis, aumentando suas populações. Na pecuária, pode alimentar bovinos, ovinos, suínos, caprinos e aves, apresentando qualidade similar à forragem de milheto, mas com maior concentração de proteína. O trigo mourisco pode atuar como forragem funcional, auxiliando a fermentação ruminal. Para avaliação da atividade anti-helmíntica do extrato hidroalcoólico (EHATM), foram utilizadas fezes de ovinos naturalmente infectados, com contagem mínima de 2.000 ovos por grama de fezes (OPG). Foram realizados o teste de eclodibilidade e o teste de migração de larvas, sendo utilizadas quatro concentrações do EHATM (0,625; 1,25; 2,5 e 5 mg mL⁻¹), dois controles (negativo e positivo) e o controle DMSO (0,75 % + água destilada). Posteriormente, o EHATM foi avaliado quanto aos teores totais de polifenóis, flavonoides, taninos condensados e atividade antioxidante. Para as condições avaliadas pelo presente estudo, foi possível verificar atividade anti-helmíntica nos testes avaliados *in vitro*. O EHATM inibiu 19,66 % da eclosão na concentração 1,25 mg mL⁻¹ e 17,66 % da migração de larvas na concentração 5 mg mL⁻¹, sendo estes os maiores valores encontrados. Observou-se atividade antioxidante em todas as concentrações, atingindo 38,71 % à 3 mg mL⁻¹ com IC₅₀% = 3,83 mg mL⁻¹. Na mesma concentração para os taninos condensados, flavonoides e polifenóis totais e foi observado respectivamente 288,89 mg equiv. ácido tânico, 31 mg equivalente rutina e 54,33 mg equivalente ácido gálico por grama de EHATM. Entretanto, o platô para polifenóis totais foi atingido a 1 mg mL⁻¹, com 54,33 mg equivalente ácido gálico. Além do efeito direto do EHATM sobre nematódeos gastrintestinais de ovinos, pesquisas futuras se justificam também pela possibilidade de efeito indireto, devido aos estímulos imunitários que a dieta proteica determina sobre o favorecimento no combate à verminose. Concluiu-se que o trigo mourisco possui diversos benefícios na nutrição humana, na agricultura e na pecuária, e também foi possível verificar atividade anti-helmíntica e antioxidante, demonstrando o potencial do EHATM no controle parasitológico de ovinos.

Palavras-chave: agroecologia, nematódeos gastrintestinais, ovino, trigo mourisco, verminose

GONÇALVES, Flávio Marcel Ferreira. **Anthelmintic potential of *Fagopyrum esculentum* Moench in vitro**. 2016. Dissertação de Mestrado em Agronomia – Universidade Estadual do Norte do Paraná, *Campus* Luiz Meneghel, Bandeirantes, 2016.

ABSTRACT

One of the limiting factor of sheep breeding is the helminth infection, which can result in poor weight gain. The combination of strategies of parasitic control, including use of phytotherapeutic, can reduce the use of chemical anthelmintic. Tanniferous plants, by having phenolic compounds mainly condensed tannins were associated with anthelmintic action. Buckwheat has high content of lysine, and the effect in the helminth control possibly is due to its protein level. The present study aimed to perform a literature review about *Fagopyrum esculentum* Moench and evaluate, *in vitro*, the anthelmintic potential of the extract of their seeds in control of gastrointestinal nematodes of sheep. Buckwheat can be used as green manure, being an option as soil cover plant and recycling of nutrients, as well as an alternative grain and forage. At the plant flowering, it can provide a food source to the predators of unwanted insects, increasing their populations. In livestock, it can feed cattle, sheep, pigs, goats and poultry featuring similar quality to millet forage, but with higher concentration of protein. Buckwheat could act as a functional forage helping ruminal fermentation. To evaluate the anthelmintic activity of the hidroalcoholic extract of buckwheat (EHATM), naturally infected sheep faeces were used, and to provide the minimum score of eggs per gram of feces (OPG) equivalent to approximately 2000 eggs. It was performed hatchability test and larvae migration test, both with 4 concentrations of EHATM (0.625; 1.25; 2.5 and 5 mg mL⁻¹), two controls (negative and positive) and one DMSO control (0.75 % + distilled water). Subsequently, the EHATM was evaluated for total content of polyphenols, flavonoids, tannins and antioxidant activity. For the conditions evaluated in this study, it was possible to verify anthelmintic activity in tests evaluated *in vitro*. The EHATM inhibited 19.66% of hatching in concentration 1.25 mg mL⁻¹ and 17.66 % of larvae migration in concentration 5 mg mL⁻¹, these being the highest values found. It was observed antioxidant activity in all concentrations, reaching 38.71% at 3 mg mL⁻¹ with IC_{50%} = 3.83 mg mL⁻¹. At the same concentration for the condensed tannins, flavonoids and total polyphenols were observed respectively 288.89 mg equiv. tannic acid, 31 mg equivalent rutin and 54.33 mg equivalent gallic acid per gram of EHATM. However, the plateau for total poliphenols was reached to 1000 mg mL⁻¹, with 54.33 mg equivalent gallic acid. In addition to the direct effect of EHATM on gastrointestinal nematodes of sheep, future research is also justified by the possibility of an indirect effect due to immune stimuli that protein diet provides on fostering in combating worms. It was concluded that buckwheat have many benefits in human nutrition, agriculture and livestock, and also was possible verify anthelmintic and antioxidant activity, demonstrating the potential of EHATM in parasitological control of sheep.

Key-words: agroecology, buckwheat, gastrointestinal nematodes, sheep, worms

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Trigo Mourisco (<i>Fagopyrum esculentum</i> Moench)	3
2.2 Helminhos na Ovinocultura	4
3 ARTIGO A: <i>Fagopyrum esculentum</i> MOENCH: A CROP WITH MANY PURPOSES IN AGRICULTURE AND HUMAN NUTRITION	
3.1 Abstract e Resumo	7
3.2 Introduction	8
3.3 Description of Buckwheat	9
3.4 Uses in Agriculture	10
3.5 Uses in Livestock	11
3.6 Uses in Human Nutrition	12
3.7 Buckwheat Allergy	15
3.8 Conclusion	16
4 ARTIGO B: POTENCIAL ANTI-HELMÍNTICO DO <i>Fagopyrum esculentum</i> MOENCH <i>in vitro</i>	
4.1 Resumo e Abstract	17
4.2 Introdução	19
4.3 Material e Métodos	21
4.4 Resultados e Discussão	24
4.5 Conclusão	27
5 CONCLUSÕES GERAIS	28
REFERÊNCIAS	29

1. INTRODUÇÃO

Em 2014, a agropecuária apresentou participação de 21,4% no produto interno bruto, com projeção de 23% para 2015. Considerando em 2010 a participação foi 5,8%, o crescimento foi de quase 300% (IBGE, 2010; PEDUZZI, 2015).

A ovinocultura é uma atividade em expansão (GÜETTER, 2011; GIANLOURENÇO, 2013), sendo o Brasil o 18º produtor mundial de ovinos, com rebanho estimado em 25,43 milhões de ovinos e caprinos (DE ZEN et al., 2014). Entretanto, um grande entrave são os parasitas gastrintestinais, representando graves problemas econômicos e sanitários em pequenos ruminantes (VIEIRA, 2008) devido às altas infecções, baixo ganho de peso, baixa qualidade da lã, entre outros (SZPATOWSKI, 2010).

Nas últimas décadas, a agropecuária vem passando por mudanças em suas características, devido ao incremento de novas tecnologias, máquinas, químicos e técnicas, que promovem aumento da produção de alimento. Entretanto, há a desvantagem de causar efeitos indesejáveis ao ambiente (ALVES et al., 2012). Com isso, novos métodos de cultivo e manejo mais seguros e sustentáveis foram criados, baseando-se na dinâmica entre solo, plantas, animais, pessoas, ecossistema e meio ambiente (IFOAM, 1998). Ao longo de décadas, extensas áreas de monoculturas foram implantadas, sustentadas pelo uso abusivo de insumos químicos, e ao mesmo tempo não valorizando práticas agrícolas sustentáveis, como consórcio, adubação verde, terraceamento, entre outras (ARAÚJO, 2013).

O conceito de agroecologia e agricultura sustentável foi lançado em 1972 em Estocolmo, na Suécia, e se consolidou na Conferência das Nações Unidas sobre o Meio Ambiente e o Desenvolvimento (ECO 92), no Rio de Janeiro. Atualmente é entendido como um conjunto de princípios e técnicas que visa a redução da dependência de energia externa e também o impacto ambiental, causado pela agropecuária e pelas indústrias. Objetiva-se produção de alimentos mais saudáveis valorizando o produtor rural, sua família, seu trabalho e sua cultura (CASEMIRO; TREVIZAN, 2009).

A agricultura orgânica pode ser definida como um sistema que promove a proteção do meio ambiente, visando a sustentabilidade social e econômica. Para isso, não é permitido o uso de fertilizantes de alta solubilidade, agrotóxicos, antibióticos, aditivos químico-sintéticos, hormônios, organismos transgênicos e radiações ionizantes (NEVES et al., 2004). Esta técnica de cultivo tem se expandido de forma rápida no mundo, e diversos países demonstram importante tendência de continuidade nesse crescimento. No Brasil, verificou-se

crescimento de 10% ao ano (ZEOLA et al., 2011) e boa parte dos produtos orgânicos destina-se ao mercado externo. A União Europeia e os Estados Unidos da América, atualmente, São responsáveis por quase 90% das exportações desses produtos brasileiros (CÉSAR et al., 2008). Os alimentos orgânicos ainda representam pequena fração dos alimentos consumidos no mundo, porém sua produção está em crescimento para atender as demandas específicas do mercado (ROSSI; LEMOS, 2013).

A produção orgânica, além de estimular a conservação ambiental, ainda tem por vantagem agregação de valor ao produto final, contribuindo assim para o desenvolvimento das zonas rurais (ARAÚJO FILHO; VASCONCELOS, 2003). Dessa forma, trata-se de um modelo de produção sustentável, mas para conquistar o mercado, o consumidor precisa conhecer a qualidade e os benefícios do produto, associando à alimentação saudável e à preservação do meio ambiente (CASEMIRO; TREVIZAN, 2009). Com isso, a procura da população por produtos orgânicos está se tornando expressiva no mundo, pela conscientização a respeito dos danos à saúde que podem causar os alimentos com resíduos de agrotóxicos (ARBOS, 2009).

Outrora, a produção dos animais para consumo era baseada na disponibilidade de alimentos e no clima. Atualmente, passaram a ser produzidos por meio de manejo intensivo das instalações, rações industriais, e uso de produtos químicos, que podem gerar resíduos nos alimentos destinados ao homem (ROSSI; LEMOS, 2013). Nesse contexto, se mostram importantes a pesquisa e os investimentos no sistema orgânico. Assim como na agricultura, a produção de carne orgânica se baseia nos princípios de sustentabilidade ambiental, econômica e social, e é uma alternativa capaz de substituir o sistema convencional. No Brasil, esse sistema de produção é relativamente recente, pois o primeiro rebanho de criação certificado foi em 1999, sendo rebanho bovino de corte no município de Corumbá/MS (RESENDE, 2013).

No sistema orgânico, as práticas de manejo devem ser baseadas no bem estar animal, reduzindo a concentração de animais e de dejetos, obtendo animais livres de resíduos de produtos sintéticos, com qualidade comprovada para a segurança alimentar da população (CAVALCANTE et al., 2007).

Este trabalho teve como objetivos realizar revisão de literatura e avaliar a atividade anti-helmíntica do extrato hidroalcoólico à 10 % de sementes *Fagopyrum esculentum* Moench *in vitro*, em helmintos gastrintestinais de ovinos, bem como avaliar a atividade antioxidante, teor de polifenóis totais, flavonoides e taninos condensados do EHATM.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. TRIGO MOURISCO (*Fagopyrum esculentum* Moench)

Trigo mourisco (*Fagopyrum esculentum* Moench) é também conhecido como trigo sarraceno, trigo mouro ou trigo preto. É uma planta dicotiledônea pertencente à família Polygonaceae, que apesar do nome, não apresenta correspondência com o trigo comum, que é uma monocotiledônea pertencente à família Poaceae. Tem como origem a China (FURLAN et al., 2006) de onde se dispersou pela Ásia e outras partes do mundo, chegando ao Brasil por volta do início do século XX na região sul (PACE, 1964).

Planta rústica, de ciclo curto e de muitos usos (MYERS; MEINKE, 1994), possui potencial como alimento nutracêutico, dietético e medicinal (EDWARDSON; JANICK, 1996; KREFT et al., 1997). Os frutos do trigo mourisco contêm proteínas, carboidratos e minerais (zinco, cobre e manganês), é rico em fibras alimentares, contribuindo para o bom funcionamento do trato gastrointestinal. Adicionalmente, pode atuar na prevenção e tratamento de doenças como a hipertensão arterial e a hipercolesterolemia (VOJTÍŠKOVÁ et al., 2012).

O trigo mourisco contém rutina, bioflavonoide útil no tratamento de doenças circulatórias e outras doenças em seres humanos, sendo que sua maior concentração se encontra nas folhas e flores (VOJTÍŠKOVÁ et al., 2012). Adicionalmente, contém alto teor de lisina, aminoácido deficiente na maioria dos cereais (JOSHI; PADORA, 1991; KUNACHOWICZ et al., 1996).

Pode ser utilizado como planta de cobertura (adubação verde) por ter grande tolerância à acidez e boa capacidade de se desenvolver em solos pobres (KLEIN et al., 2010). Os grãos, feno ou silagem do trigo mourisco podem ser usados na alimentação de bovinos, ovinos, suínos, caprinos e aves (GOEPFERT, 1968). Apresenta qualidade semelhante à forragem do milheto (GÖRGEN, 2013), mas com alta concentração de proteínas de excelente qualidade. Pasqualetto et al. (1999) constataram eficiente controle de plantas invasoras monocotiledôneas e dicotiledôneas nas áreas após a utilização do trigo mourisco como adubação verde, o que pode ser devido aos exsudatos radiculares liberados pelo trigo mourisco e também por ser uma planta de família diferente das normalmente cultivadas (KLEIN et al., 2010).

2.2. HELMINTOS NA OVINOCULTURA

Apesar do crescimento da ovinocultura, as verminoses gastrintestinais constituem um dos principais fatores limitantes à produção de ovinos, especialmente em regiões tropicais (VIEIRA, 2008).

Prejuízos ocasionados pela infecção por helmintos incluem menor ganho de peso, má qualidade da lã, maior mortalidade, menor rendimento de carcaça, menor produção de leite e baixa fertilidade (VIEIRA, 2008). Esses prejuízos são decorrentes de sinais clínicos como diarreia, anemia, hemorragia, prostração e fraqueza (CAVALCANTI et al., 2007), afetando desfavoravelmente a lucratividade e bem estar animal (SZPATOWSKI, 2010). Além disso, há aumento das despesas pela aquisição de medicamentos antiparasitários e uso de mão de obra. Entre os parasitas que infectam os ovinos, destacam-se os trichostrongilídeos, da família Trichostrongylidae. Em geral, são helmintos pequenos, geralmente capilariformes e que apresentam ciclo evolutivo semelhante, constituído das fases pré-parasitária e parasitária. Os principais gêneros são *Trichostrongylus*, *Haemonchus*, *Ostertargia*, *Nematodirus* e *Cooperia*. Embora esses sejam considerados como principais endoparasitas dos ovinos, os gêneros *Strongyloides*, *Oesophagostomum* e *Trichuris* também são frequentemente encontrados (AMARANTE et al., 2004).

Haemonchus contortus habita o abomaso dos ruminantes, é hematófago, causa anemia e eventualmente mortalidade. Diferentemente, *Trichostrongylus colubriformis* habita o intestino delgado, destrói a mucosa intestinal reduzindo as vilosidades responsáveis pela absorção de nutrientes e líquidos, podendo ocasionar diarreia e perda de peso (AMARANTE et al., 2004).

O controle desses parasitas deve ser abordado em um contexto amplo que leve em consideração a dinâmica populacional dos nematoides no rebanho e na pastagem, uma vez que os animais se infectam ao ingerirem larvas presentes no ambiente. Assim, estratégias de controle devem objetivar não somente controlar os parasitas nos animais, mas, sobretudo prevenir a contaminação das pastagens, mantendo níveis aceitáveis de produção e ao mesmo tempo, evitando a eliminação total do agente causal. Portanto, a integração de manejos é o principal conceito na busca do controle sustentável das helmintíases (HOSTE; TORRES-ACOSTA, 2011). A busca por estratégias como pastejo integrado à outras espécies e uso de terapias naturais, têm sido frequentemente observada (BATATINHA et al., 2011; JOSHI et al., 2011;).

Outro aspecto relevante, diz respeito à resistência farmacológica aos parasitocidas (SZPATOWSKI, 2010). Medidas naturais para o controle parasitário pode resultar em benefícios positivos à resistência dos hospedeiros, pela redução do uso de anti-helmínticos químicos (HOUDIJK et al., 2012). No estado do Paraná, o registro de resistência de ovinos a anti-helmínticos comerciais vem sendo relatado há décadas (VIEIRA et al., 1992; SOCCOL; POHL-DE-SOUZA, 1997). Foi observada resistência aos vários grupos químicos, em diferentes regiões do estado. O uso indiscriminado dessas drogas selecionou isolados resistentes, e consequentemente, estes produtos acabaram não realizando o controle das verminoses satisfatoriamente.

A resistência aos anti-helmínticos é o declínio da eficiência de uma droga contra uma população de parasitos, anteriormente suscetível (SANGSTER; GILL, 1999). Em ovinos e caprinos, há resistência aos diversos grupos de fármacos (GOPAL et al., 1999). Soccol e Pohl-de-Souza (1997) demonstraram resistência em 92,3% dos rebanhos testados para oxfendazol, 80% para levamisol, 85,7% para tetramisol, 91,3% para ivermectin, 30,8% para moxidectin, 85,8% para closantel, 87,5% para as associações tetramisol + disofenol e oxfendazol + closantel, e 100% para as associações albendazol, fenbendazol, abamectin, doramectin e oxfendazol + ivermectin. Rosalinski-Moraes et al. (2007) observaram resistência farmacológica em todas as propriedades estudadas no oeste de Santa Catarina. Esses autores verificaram resistência ao ivermectin (100%), moxidectin (66,7%), levamisol (44,4%), e aos benzimidazóis (75%). Sczesny-Moraes et al. (2010) demonstraram que as formulações com albendazol e ivermectina não apresentaram eficácia na redução do OPG, para o controle de *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus colubriformis*, *Cooperia curticei*, *Cooperia punctata*, *Cooperia pectinata* e *Oesophagostomum columbianum*.

Além disso, atualmente, a produção de carne é baseada no manejo intensivo, com uso de rações industriais e produtos químicos, como vermífugos e antibióticos, que geram resíduos nos alimentos (ROSSI; LEMOS, 2013). Neste contexto, observa-se no mercado consumidor, a crescente busca por produtos orgânicos, isentos de resíduos químicos (RESENDE, 2013).

Taninos exercem ação anti-helmíntica direta ao reduzir a fecundidade das fêmeas de nematódeos (OTERO; HIDALGO, 2004), e indireta ao aumentar a resposta imune, por proteger a proteína ingerida da degradação ruminal, aumentando sua disponibilidade no trato gastrintestinal inferior (KETZIS et al., 2006). A atividade anti-helmíntica, *in vitro*, dos taninos foi caracterizada pela redução de eclosão, desenvolvimento, motilidade de larvas e adultos (BRUNET et al., 2008; JOSHI et al., 2011). *In vivo* causam reduções de OPG e da carga

parasitária (MINHO et al., 2008; MAX et al., 2009; MUPEYO et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2011). Estes efeitos determinam importante perspectiva para o controle de nematódeos pelo consumo de plantas taníferas.

3. ARTIGO A: *Fagopyrum esculentum* Moench: a crop with many purposes in agriculture and human nutrition

3.1. ABSTRACT E RESUMO

3.1.1. Abstract

Buckwheat is a dicotyledonous crop that quickly grow at high altitudes. It presents high tolerance to acidity and ability to grow in poor soil. This study aimed to identify different buckwheat forms of use and benefits in agriculture and human nutrition. It can be used as green manure, being an option as soil cover plant and recycling of nutrients, as well as an alternative grain and forage. At the plant flowering, it can provide a food source to the predators of common insects' pests, increasing their populations. In livestock, it can feed cattle, sheep, pigs, goats and poultry because it features similar quality to millet forage, but with higher concentration of protein. Buckwheat could act as a functional forage to manipulate ruminal fermentation. The presence of tannins in plants can positively influence the health of small ruminants because these represent a promising alternative control of gastrointestinal nematodes. For human nutrition, the buckwheat is an important food by contain a well-balanced amino acid profile with a high quantity of lysine, limiting amino acid in grasses such wheat, relatively high fibre content, zinc (Zn), copper (Cu), manganese (Mn) and selenium (Se). Furthermore, this flour is gluten-free and it can be used as a supplement for patients with celiac disease. Therefore, it is a culture that should be best explored in different regions of the world.

Key-words: buckwheat, celiac sprue, green manuring, high protein, tanniferous plants, recycling of soil nutrients.

3.1.2. Resumo

Trigo mourisco é uma dicotiledônea que cresce rapidamente em altas altitudes. Apresenta alta tolerância à acidez e habilidade de se desenvolver em solos pobres. O presente estudo objetivou identificar diferentes formas de uso do trigo mourisco e benefícios na agropecuária e na nutrição humana. Pode ser utilizado como adubo verde, sendo uma opção para cobertura de solo e reciclagem de nutrientes, assim como uma alternativa para grãos e forragem. No florescimento,

a planta pode prover uma fonte de alimento para predadores de insetos pragas comuns, aumentando suas populações. Na pecuária, pode alimentar bovinos, ovinos, suínos, caprinos e aves, apresentando qualidade similar à forragem de milho, mas com maior concentração de proteína. O trigo mourisco pode atuar como uma forragem funcional, manipulando a fermentação ruminal. A presença de taninos nas plantas pode influenciar positivamente a sanidade de pequenos ruminantes porque representa uma promissora alternativa de controle de nematoides gastrintestinais. Na nutrição humana, o trigo mourisco é um importante alimento, contendo perfil balanceado de aminoácidos com grande quantidade de lisina, aminoácido limitante em gramíneas como o trigo comum, relativo alto teor de fibras, zinco (Zn), cobre (Cu), manganês (Mn) e selênio (Se). Além disso, a farinha é livre de glúten, podendo ser utilizada por pacientes com doença celíaca. Portanto, é uma cultura que deve ser melhor explorada em diferentes regiões do mundo.

Palavras-chave: trigo mourisco, doença celíaca, adubação verde, alto teor proteico, plantas taníferas, reciclagem de nutrientes do solo.

3.2. INTRODUCTION

Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) is a dicotyledonous crop belonging to Polygonaceae family taxonomically unrelated to wheat (HEFFLER et al., 2014). It is popular in the mountainous regions of China and in other countries at the northern hemisphere. It can be grown at high altitudes and has a short growing span (ZHOU et al., 2012). Buckwheat has been a culture of secondary importance, however it is produced in almost all countries where cereals are grown (CAMPBELL, 1997).

The crop is not a cereal, but the seeds (achenes) are usually classified among the cereals grains because of its similar usage. The grain is generally used as human food and as animal feed. The dehulled groats can be cooked as porridge and the flour can be used in the preparation of pancakes, biscuits, noodles, cereals, among others (CAMPBELL, 1997). Buckwheat contains proteins with high biological value and balanced amino acid composition, presenting relatively high content of fibre, Zn, Cu, Mn and Se (AHMED et al., 2014).

Currently, China, Russian Federation, Kazakhstan and Ukraine are the leading producers of buckwheat, with production in other countries of different continents, according to Table 1, which shows the current leading producers of buckwheat, area harvested and yield in 2013. The leading continents producers are Europe and Asia (FAOSTAT, 2013).

So, the aim of this study was to identify different buckwheat forms of use and benefits in agriculture and human nutrition.

Table 3.1. World's largest countries producers of buckwheat in 2013 (FAOSTAT, 2013).

Countries	Production (tonnes)	Area (ha)	Yeld (t ha ⁻¹)
Russian Federation	833936	905911	0,921
China	733000*	705000*	1,040
Kazakhstan	276840	202008	1,370
Ukraine	179020	168400	1,063
France	154800	44500	3,479
Poland	90874	70384	1,291
USA	81000†	77500†	1,045
Brazil	62000†	48000†	1,292
Japan	33400	61400	0,544
Belarus	30353	31403	0,967
World Total	2547014	2386212	1,067

* Aggregate, may include official, semi-official or estimated data

† FAO estimate

3.3. DESCRIPTION OF BUCKWHEAT

Fagopyrum esculentum Moench is common buckwheat, widely cultivated over the Northern and to some extent the Southern hemisphere. There are many cultivars or landraces in this species and their achene forms can vary, some of them being winged on the angles. It is an annual crop, branched, glabrous, and reaching up to 1 m tall (CAMPBELL, 1997).

The leaves are petiolate, blades are ovate-triangular to triangular, 2-8 cm long, with acuminate tips, bases are cordate or approximately hastate; upper leaves are smaller, sessile. The inflorescences are terminal and auxiliary, branch in dense corymbose or panicle cyme. Flowers are white or pink, 6 mm in diameter; pedicel is 2-3 mm long, articulate; perianths are 3 mm long; 8 nectaries are yellow, alternating with stamens; being heterostyly, capitate stigma (CAMPBELL, 1997).

The achenes are triquetrous, acute angle, longer than 5 mm, more than twice the persistent perianths length, brown or black-brown, lucid (CAMPBELL, 1997). Details of buckwheat are presented in Figure 3.1.

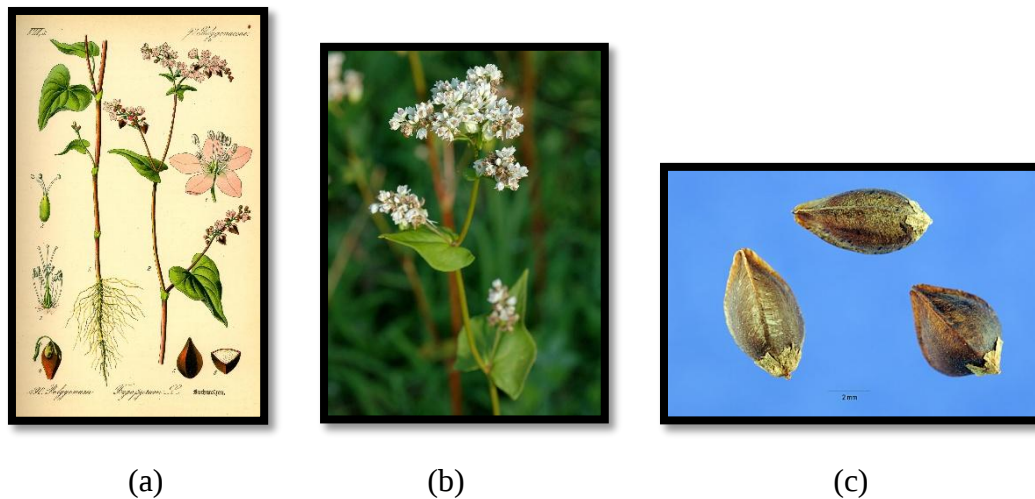


Figure 3.1. Details of buckwheat: (a) Structures (THOMÉ, 1903); (b) Buckwheat specimen (SMITH, 2007); (c) Seeds (HURST, 2015).

3.4. USES IN AGRICULTURE

Buckwheat can be used as a cover crop (green manure) by having high tolerance to acidity and good ability to grow in poor soils. It can reach 30 Mg ha⁻¹ of green mass and dry mass up to 7 Mg ha⁻¹ with a height up to 1.30 m at 72 days after sowing (DAS). Klein et al. (2010) found higher concentration of potassium and nitrogen and micronutrients zinc, manganese and iron, showing good ability to recycle nutrients from the soil (Table 3.2). In alfalfa (*Medicago sativa*), green manure crops (like buckwheat) may provide benefits in production systems by increasing pathogen antagonists (SAMAC et al., 2013). Other benefits of using green manures include reduction on the dependence on mineral fertilizers, maintenance of organic matter in the soil providing nutrients for plant growth (YADAV et al., 2000) and increase of size and activity of soil microbial communities (KAUTZ et al., 2004; MANICI et al., 2004; TEJADA et al., 2008). However, the positive effects of green manure are affected by the crops chosen for this purpose (MANCINELLI et al., 2013).

Table 3.2. Dry mass production and mass nutrients recycled per hectare and the carbon/nitrogen ratio of plants of an early and a late cultivar (KLEIN et al., 2010).

Sample	Drymass	N	P	K	C/N ratio
kg ha ⁻¹					
Late	5633	113.22	17.46	208.99	20.17
Early	6870	111.30	18.55	220.53	23.97

The crop is known to increase beneficial insects which are predators of common insects pests and can help to reduce their populations. The increase in population is due to the food source provided to the insect in the plant flowering. As examples, can be mentioned hover flies, predatory wasps, minute pirate bugs, insidious flower bugs, tachinid flies, and lady beetles (VALENZUELA; SMITH, 2002).

Buckwheat should not be grown in fields with presence of root lesion nematodes (*Pratylenchus penetrans*) and root-knot nematodes, because the crop is susceptible to these nematodes (VALENZUELA; SMITH, 2002). In a previous trial work, buckwheat showed promising as a nematode suppressant, significantly reducing *Pratylenchus zeae* numbers in comparison to sugarcane (BERRY; RHODES, 2006). In addition, may have ability to increase the population of beneficial soil nematodes to crops, like *Helicotylenchus* (RHODES et al., 2014). The use of buckwheat can be an option to reduce the use of chemical control, because in general, nematode control has traditionally relied to this kind of control (e.g. aldicarb in South African sugar industry) (BERRY; RAMOUTHAR, 2012).

Though producing low amounts of biomass, buckwheat grows and flowers in a short time period. For sugarcane growers, it can be ideal due to pressing circumstances, may need to include only a short fallow in their sugarcane cycle (RHODES et al., 2014).

3.5. USES IN LIVESTOCK

Grains, hay or silage buckwheat can be fed to cattle, sheep, pigs, goats and poultry (GOEPFERT, 1968). It features similar quality to millet forage (GÖRGEN, 2013), but with a higher concentration of protein.

Buckwheat could act as a functional forage to manipulate ruminal fermentation (AMELCHANKA et al., 2010; LEIBER et al., 2012) and, subsequently, milk quality and specially milk fatty acids profile (KÄLBER et al., 2011) for producing high levels of various secondary compounds (WIJNGAARDAND; ARENDT, 2006). Additionally, can happen a certain mitigation of methane emission without a concomitant severe decline of rumen microbial productivity (LEIBER et al., 2012). The main phenolic constituent in buckwheat which occur in substantial amounts is the flavonoid rutin and also hyperoside and chlorogenic acid (HINNEBURG; NEUBERT, 2005; KALINOVA et al., 2006). An important property of rutin appears to be the partial protection of dietary proteins from ruminal degradation (LEIBER et al., 2012).

The presence of tannins in plants can positively influence the health of small ruminants because they represent a promising alternative control of gastrointestinal nematodes of these animals. However, their effects depend on the type and concentration of these metabolites (OLIVEIRA et al., 2011). Karamac' (2010) found that the total phenolic content of the tannin fraction from buckwheat seeds was higher than that from buckwheat groats. Constituents of tannin fractions, which reacted with Folin-Ciocalteu's reagent (FCR) expressed as catechin equivalents amounted to 477 and 371 mg g⁻¹ of fraction (Table 3.3). The comparison of antioxidant activity of tannin fractions from buckwheat with the literature data concerning the antioxidant activity of fractions isolated from other plants, leads to the conclusion that buckwheat fractions are strong antioxidants.

Table 3.3 Total phenolic content, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical (DPPH) scavenging activity and Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) of buckwheat tannin fractions (KARAMAC', 2010).

Buckwheat tannin fraction	Total phenolics (mg catechin equiv g⁻¹)*	DPPH scavenging	
		activity EC₅₀ (mg)	TEAC (nmol Trolox equiv g⁻¹)*
Seeds	477 ± 11a	0.019	4.06 ± 0.14 ^a
Groats	371 ± 10b	0.021	3.55 ± 0.09b

Data expressed as means ± standard deviations (n = 3). In the same column, means with different letter (a, b) differ significantly (P<0.05)

* Results are expressed as equivalents (equiv) of standard per g of tannin fraction

With regard of nutritional value for animals, crude protein is particularly concentrated in leaves, followed by flowers, whereas stems are characteristically high in fiber. Leiber et al. (2012) found 620 g of non-NDF carbohydrates/kg DM in buckwheat grains, and leaves also were rich in non-NDF carbohydrates. In comparison with ryegrass (*Lolium multiflorum*), the entire aerial part of the buckwheat herb contained less crude protein, ether extract and fibre, but more non-fibre carbohydrates (e.g. starch, oligosaccharides and sugars) and almost six times more total extractable phenols (LEIBER et al., 2012).

3.6. USES IN HUMAN NUTRITION

Buckwheat is an important ingredient of traditional dishes of Asia (e.g. Japanese and Korean noodles and jellies), Russia (e.g. pancakes or a sort of porridge called "kasha"), and Europa (e.g. French pancakes, Dutch "poffertjes" and Northern Italian hot

porridge and pasta). Hulls are also used to fill pillows. It is used to obtain dark gluten-free flour which can be used as supplement for patients with celiac (or coeliac) disease (also known as celiac sprue and gluten-sensitive enteropathy), one of the most common food intolerances in the world (HEFFLER et al., 2014). Therefore, buckwheat has the potential to be used as natural means of fortification and enrichment in gluten-free, allergen-free foods and to benefit these individuals (OMARY et al., 2014).

The composition of buckwheat is similar to other cereals and pseudo-cereals consumed around the world. The comparison of buckwheat and wheat flour is shown in Table 3.4. The bran contains fagopyritols and rutin, compounds which may be useful medicinally. However, it also contains large amounts of phytic acid, a major anti-nutritional factor in common wheat (*Triticum aestivum*) (STEADMAN et al., 2001).

Buckwheat grains hulls have some components with biological activity, e.g. flavonoids and flavones, phenolic acids, condensed tannins, phytosterols, fagopyrins, RS, dietary fibre, lignans, plant sterols, vitamins and minerals (AHMED et al., 2014).

Table 3.4. Comparison of buckwheat flour composition with wheat flour (m g⁻¹ DW*).

Nutrient	Buckwheat Flour	Wheat Flour	Reference
Carbohydrates	737	835	
Crude ash	22	12	QUIN et al., 2010; LIN et al., 2009
Crude fat	28	26	
Crude fibre	23	20	
Crude protein	103	106	
Protein	110	115	
Ash	26	17	
Lipid	34	10	BONAFACCIA; FABJAN, 2003
Soluble fibre	12	10	
Insoluble fibre	53	15	
Total fibre	65	24	

*DW, dry weight

The protein content in buckwheat is significantly higher than important grasses such rice, wheat, sorghum, millet and maize, being the second highest after oat flour. Buckwheat has a well-balanced amino acid profile with a high quality of lysine, limiting amino acid in grasses such wheat (Table 3.5). The crop have one of the highest amino acid scores among plant sources (IKEDA et al., 2002).

The buckwheat flour is a good source of many essential minerals, contains higher levels of Zn, Cu and Mn (IKEDA et al., 1999; STEADMAN et al., 2001) (Table 3.6).

The content of these essential minerals is higher in comparison with other cereal flours (IKEDA et al., 2006).

Buckwheat grains contain higher levels of vitamin B1 (thiamine), B2 (riboflavin), E (tocopherol) and B3 (niacin and niacinamide) compared with most cereals. The vitamin content of buckwheat are presented in Table 3.6 (WIJNGAARD; ARENDT, 2006).

In breads supplemented with 40% seed mixture of buckwheat and quinoa, it was shown potential to improve nutritional characteristics with 2.5% higher protein, 2% higher fat as well as two-fold higher fiber content and higher Ca and P contents. The sensory characteristics of evaluated breads were excellent even at the level of 40% supplementation level and the addition of quinoa and buckwheat seeds also influenced the rheological characteristics of dough. The inclusion of such high levels of seed in bread was possible by modification in technological procedure of seed preparation, and it could enable the development of a range of new baking products with enhanced nutritive value (DEMIN et al., 2013).

Table 3.5. Essential amino acid composition (mg g⁻¹ protein) of buckwheat and wheat and comparison of mineral composition (mg 100 g⁻¹ flour) of its flours.

Amino acid (mg g ⁻¹ protein)	Buckwheat	Wheat	Reference
Lysine	51	25	AHMED et al., 2014
Methionine	19	18	
Cystine	22	18	
Threonine	35	28	
Valine	47	45	
Isoleucine	35	34	
Leucine	61	68	
Phenylalanine	42	44	
Histidine	22	23	
Tryptophan	16	10	
	Buckwheat		
Mineral composition (mg 100 g ⁻¹)	Flour	Wheat Flour	
Ca	12.4	14.8	IKEDA et al., 2006
Cu	0.52	0.16	
Fe	2.86	0.79	
K	450	96	
Mg	375	35	
Mn	1.61	0.43	
P	394	124	
Zn	2.51	0.80	

Ca, calcium; Cu, copper; Fe, iron; K, potassium; Mg, magnesium; Mn, manganese; P, phosphorus; Zn, zinc.

Table 3.6. Vitamin composition of buckwheat (WIJNGAARD; ARENDT, 2006)

Vitamins	Level (mg g⁻¹)
A (carotenoids)	2.1
B1 (thiamine)	4.6
B2 (riboflavin)	1.4
B3 (niacin)	18.0
B5 (pantothenicacid)	10.5
B6 (pyridoxine)	7.3
C (ascorbicacid)	50.0
E (tocopherols)	54.6

3.7. BUCKWHEAT ALLERGY

Buckwheat allergy is already seen in Asia, Europe and USA. In Europe, since the crop was introduced in popular food sectors. Failure to recognize buckwheat allergy can expose people to a risk to health. Allergy to buckwheat is typically IgE mediated and it is often associated to severe anaphylaxis (WIESLANDER; NORBÄCK, 2001). Although various buckwheat allergens have been identified, the proteins 24 kDa (Fag e 1), 26 kDa and 67-70 kDa have been suggested as important (TOHGI et al., 2011). In all patients with allergies to buckwheat, the protein Fag e 1, which is homologous to 11S or 12S globulin, has reacted with all of the serum IgE. The protein 16 KDa is resistant to digestion and has been identified as a major buckwheat allergen in Japanese and Korean patients with allergy (PARK et al., 2000).

Over the past decades, has been published many studies on buckwheat allergy (SMITH, 1909; WIESLANDER; NORBÄCK, 2001; HEFFLER et al., 2014). The first study was published in 1909, a case about patients who suffered from dyspnoea, acute rhinitis, urticaria and mucosal angioedema after the ingestion of buckwheat flour (SMITH, 1909). Failure to recognize buckwheat allergy can expose people to a risk to health. It is recommended to clinicians suspect and test allergy to buckwheat in patients with symptoms of food allergy, when have the consumption of food produced with this plant in the composition (HEFFLER et al., 2014).

3.8. CONCLUSION

Buckwheat is a crop with potential in agriculture, livestock and human nutrition. In agriculture, it can be used as green manure, to increase predators of common insects pests helping reduce their populations etc. In livestock, it can be used to feed cattle, sheep, pigs, goats and poultry. The plant could act as a functional forage to manipulate ruminal fermentation and the presence of tannins can positively influence the health of small ruminants. In human nutrition, buckwheat is an important food, which contains balanced amino acid composition, relatively high fiber content, high contents of available Zn, Cu and Mn and dietary Se. Therefore, it is a culture that should be further explored, as it promotes many benefits and is easily adaptable to various areas, which can be grown in different regions of the world.

4. ARTIGO B: POTENCIAL ANTI-HELMÍNTICO DO *Fagopyrum esculentum* MOENCH *in vitro*

4.1. RESUMO E ABSTRACT

4.1.1. Resumo

Um dos fatores limitantes da ovinocultura é a infecção por helmintos, resultando principalmente em baixo ganho de peso. A combinação de estratégias no controle parasitário, incluindo a utilização de plantas medicinais, pode reduzir o uso de anti-helmínticos químicos. Plantas taníferas, por apresentarem compostos fenólicos, principalmente taninos condensados, foram associadas à ação anti-helmíntica. *Fagopyrum esculentum* Moench (trigo mourisco) possui flavonoides, ácidos fenólicos, taninos condensados, e alto teor de lisina, sendo que os maiores teores desses compostos se encontram na casca. Taninos exercem ação anti-helmíntica direta ao reduzir a fecundidade das fêmeas de nematódeos, e indireta ao aumentar a resposta imune ao proteger a proteína ingerida da degradação ruminal. O objetivo deste trabalho foi avaliar, *in vitro*, o potencial anti-helmíntico do extrato hidroalcoólico de sementes de *Fagopyrum esculentum* Moench (EHATM) no controle de nematódeos gastrintestinais de ovinos. Foram utilizadas fezes de ovinos apresentando no mínimo 2.000 ovos por grama de fezes. Foram realizados teste de eclodibilidade e de migração de larvas, avaliando-se os tratamentos EHATM nas concentrações 0,625; 1,25; 2,5 e 5 mg mL⁻¹, controles negativo e positivo e controle DMSO (0,75% + água destilada). As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade. Posteriormente, foram determinados os teores totais de polifenóis, flavonoides, taninos condensados e atividade antioxidante do EHATM. Para as condições avaliadas pelo presente estudo, foi possível verificar, *in vitro*, atividade anti-helmíntica do EHATM nos dois testes. O EHATM inibiu 19,66 % da eclosão na concentração 1,25 mg mL⁻¹ e 17,66 % da migração de larvas na concentração 5 mg mL⁻¹. A atividade anti-helmíntica pode ser devido ao teor de taninos condensados encontrado (288,89 mg equivalente ácido tânico por grama de extrato). Observou-se atividade antioxidante em todas as concentrações, atingindo 38,71% à 3 mg mL⁻¹ com IC_{50%} = 3,83 mg mL⁻¹. Na mesma concentração para flavonoides e polifenóis totais foi observado respectivamente 31 mg equivalente rutina e 54,33 mg equivalente ácido gálico por grama de EHATM. Além do efeito direto do EHATM sobre tricostrongilídeos em ovinos, pesquisas adicionais se justificam também pela possibilidade de efeito indireto, devido aos estímulos imunitários que a dieta

proteica determina sobre o favorecimento no combate à verminose. Concluiu-se que foi possível verificar atividade anti-helmíntica e antioxidante, demonstrando o potencial do EHATM no controle parasitológico de ovinos.

Palavras chave: agroecologia, nematódeos gastrintestinais, ovinocultura, produção orgânica, taninos condensados

4.1.2. Abstract

One of the limiting factors of sheep breeding is the helminth infection, mainly resulting in poor weight gain. The combination of parasite control strategies, including the use of medicinal herbs can reduce the use of chemical anthelmintics. Tanniferous plants, by having phenolic compounds, mainly condensed tannins were associated with anthelmintic action. *Fagopyrum esculentum* Moench (buckwheat) has flavonoids, phenolic acids, tannins, and high content of lysine, and the highest levels of these compounds are found in the seeds. Tannins exert direct anthelmintic action in reducing of the the fertility of female nematodes, and indirect by increasing the immune response to protect the ingested protein of rumen degradation. The objective of this study was to evaluate, *in vitro*, the anthelmintic potential of the hydroalcoholic extract of *Fagopyrum esculentum* Moench seeds (EHATM) in control of gastrointestinal nematodes of sheep. It was used faeces from sheep presenting at least 2,000 eggs per gram of faeces. It was performed hatchability test and larvae migration test, evaluating the treatments EHATM treatments at concentrations 0.625; 1.25; 2.5 and 5 mg mL⁻¹, negative and positive controls and DMSO control (0.75% + distilled water). Subsequently, the EHATM was evaluated for total content of polyphenols, flavonoids, tannins and antioxidant activity. For the conditions evaluated in this study, it was possible to verify *in vitro* anthelmintic activity of EHATM in both tests. The EHATM inhibited 19.66% of hatching in concentration 1.25mg mL⁻¹ and 17.66% of larvae migration in the concentration of 5 mg mL⁻¹, these being the highest values found. The anthelmintic activity may be due to condensed tannin content found (288.89 mg equiv. tannic acid per gram of extract). It was observed antioxidant activity at all concentrations, reaching 38.71% at 3 mg mL⁻¹ with IC_{50%} = 3.83 mg mL⁻¹. At the same concentration to total polyphenols and flavonoids was observed respectively 31 mg equivalent rutin and 54.33 mg equivalent gallic acid per gram of EHATM. However, the highest concentration of total polyphenols was reached at 1 mg mL⁻¹ with 54.33 mg equivalent gallic acid. In addition to the direct effect of EHATM on trichostrongylids of sheep, future research

is also justified by the possibility of an indirect effect due to immune stimuli that protein diet provides on fostering in combating worms. It was concluded that it was possible verify anthelmintic and antioxidant activity, demonstrating the potential of EHATM in parasitological control of sheep.

Key-words: agroecology, condensed tannins, gastrointestinal nematodes, sheep breeding, organic production

4.2. INTRODUÇÃO

A ovinocultura é uma atividade em expansão (GÜETTER, 2011; GIANLOURENÇO, 2013), sendo o Brasil o 18º produtor mundial de ovinos, com rebanho estimado em 25,43 milhões de ovinos e caprinos (DE ZEN et al., 2014). Porém, as verminoses gastrintestinais constituem um dos principais fatores limitantes à produção de ovinos, especialmente em regiões tropicais (VIEIRA, 2008).

Prejuízos ocasionados pela infecção por helmintos incluem menor ganho de peso, má qualidade da lã, maior mortalidade, menor rendimento de carcaça, menor produção de leite e baixa fertilidade. Esses prejuízos são decorrentes de sinais clínicos como diarreia, anemia, hemorragia, prostração e fraqueza, afetando desfavoravelmente a lucratividade e bem estar animal (SZPATOWSKI, 2010). Além disso, há aumento das despesas pela aquisição de medicamentos antiparasitários e uso de mão de obra.

Entre os parasitas que infectam os ovinos, destacam-se os trichostrongilídeos, da família Trichostrongylidae, que compreende espécies dos gêneros *Trichostrongylus*, *Haemonchus*, *Ostertargia*, *Nematodirus* e *Cooperia*.

O controle desses parasitas deve ser abordado em um contexto amplo, que leve em consideração a dinâmica populacional dos nematoides no rebanho e na pastagem, uma vez que os animais se infectam ao ingerirem larvas presentes no ambiente. Assim, estratégias de controle devem objetivar não somente o controle dos parasitas nos animais, mas, sobretudo prevenir a contaminação das pastagens. Entretanto, deve-se manter níveis aceitáveis, evitando-se a eliminação total do agente causal. Portanto, a integração de manejos é o principal conceito na busca do controle sustentável das helmintíases (HOSTE; TORRES-ACOSTA, 2011). A busca por estratégias como pastejo integrado à outras espécies e uso de terapias naturais, tem sido frequentemente observada (BATATINHA et al., 2011; JOSHI et al., 2011).

Outro aspecto relevante, diz respeito à resistência farmacológica aos parasiticidas químicos (SZPATOWSKI, 2010). Medidas naturais para o controle parasitário pode resultar em benefícios positivos para se minimizar a resistência aos anti-helmínticos químicos (HOUDIJK et al., 2012). No estado do Paraná, o registro de resistência vem sendo relatado há décadas (VIEIRA et al., 1992; SOCCOL; POHL-DE-SOUZA, 1997). Foi observada resistência à vários grupos químicos, em diferentes regiões do estado. O uso indiscriminado dessas drogas selecionou isolados resistentes, e consequentemente, estes produtos acabaram não realizando o controle das verminoses satisfatoriamente (SOCCOL E POHL-DE-SOUZA, 1997; ROSALINSKI-MORAES et al., 2007; SCZESNY-MORAES et al., 2010, VILA NOVA et al., 2014; MADRUGA et al., 2015).

Atualmente, observa-se no mercado consumidor, crescente busca por produtos orgânicos, isentos de resíduos químicos (RESENDE, 2013). A agricultura orgânica pode ser definida como um sistema que promove a proteção do meio ambiente, visando a sustentabilidade social e econômica. Essa técnica de cultivo tem se expandido de forma rápida no mundo, e diversos países demonstram importante tendência de continuidade nesse crescimento. A produção orgânica deve estar embasada em princípios agroecológicos para garantir a sustentabilidade socioeconômica. A transição para a produção orgânica contribui para o incremento e a distribuição da receita nas unidades familiares, gerando impacto econômico (NEVES et al., 2016).

Trigo mourisco (*Fagopyrum esculentum* Moench) é uma planta dicotiledônea pertencente à família Polygonaceae, que apresenta alto teor proteico, principalmente lisina (ZHOU et al., 2012). A casca das sementes de trigo mourisco possui taninos condensados, flavonoides e ácidos fenólicos (STEADMAN et al., 2001). Ainda apresenta rutina, um bioflavonoide útil no tratamento de diferentes afecções clínicas, principalmente devido à sua ação antioxidante (KARAMAC', 2010). A maior concentração de rutina no trigo mourisco se encontra nas folhas e flores (VOJTÍŠKOVÁ et al., 2012).

Taninos exercem ação anti-helmíntica direta ao reduzir a fecundidade das fêmeas de nematódeos (OTERO; HIDALGO, 2004), e indireta ao aumentar a resposta imune, por proteger a proteína ingerida da degradação ruminal, aumentando sua disponibilidade no trato gastrointestinal inferior (KETZIS et al., 2006). A atividade anti-helmíntica, *in vitro*, dos taninos foi caracterizada pela redução de eclosão, desenvolvimento, motilidade de larvas e adultos (BRUNET et al., 2008; JOSHI et al., 2011). *In vivo* causam reduções de OPG e da carga parasitária (MINHO et al., 2008; MAX et al., 2009; MUPEYO et al., 2011; OLIVEIRA et al.,

2011). Estes efeitos determinam importante perspectiva para o controle de nematódeos pelo consumo de plantas taníferas.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar, *in vitro*, o potencial anti-helmíntico do extrato hidroalcoólico de sementes de *Fagopyrum esculentum* Moench (EHATM) no controle de nematódeos gastrintestinais de ovinos, bem como avaliar a atividade antioxidante, os teores totais de polifenóis, flavonoides e taninos condensados.

4.3. MATERIAL E MÉTODOS

4.3.1. Obtenção do material vegetal e confecção do extrato

Sementes de trigo mourisco foram coletadas no Município de São João do Ivaí, Paraná, Brasil. O material botânico foi selecionado pela ausência de alterações macroscópicas em sua constituição superficial. Foi realizada secagem em estufa de ventilação forçada de ar, à temperatura de 40° C, e posteriormente maceração em moinho de facas.

Para a obtenção do extrato hidroalcoólico de sementes de trigo mourisco à 10%, foi utilizado 90 g de sementes, 240 mL de água destilada, e 570 mL de álcool etílico absoluto. Após, esta solução foi mantida em agitação mecânica constante em temperatura ambiente por 24 horas. Subsequente foi realizada filtração à vácuo por três vezes, acrescentando solução hidroalcoólica a cada nova filtração nas mesmas proporções supracitadas. O extrato obtido foi concentrado ao rotaevaporizador e liofilizado.

4.3.2. Obtenção de ovos e larvas de nematódeos

Foram coletadas fezes diretamente da ampola retal de ovinos naturalmente infectados. Realizou-se contagem de ovos por grama de fezes (OPG) para seleção das amostras a serem utilizadas nos testes *in vitro*. Foram selecionadas amostras que apresentassem valores iguais ou superiores a 2.000 ovos.

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 fezes foram maceradas em água morna (40 °C), e para retenção dos ovos, foram utilizados tamises de diferentes aberturas (250, 150, 75 e 25 µm). Após lavagem com água morna, o material obtido foi centrifugado a 3000 giros durante 5 minutos. Após, foi descartado o sobrenadante e os tubos foram preenchidos com solução saturada de NaCl para suspensão dos ovos. O

sobrenadante foi filtrado no tamis de 25 μm , a solução final foi centrifugada, e para a retirada dos resíduos de NaCl, o sobrenadante foi novamente filtrado e lavado em água morna.

Para obtenção de larvas, foi realizada coprocultura segundo metodologia de Ueno e Gonçalves (1998).

4.3.3. Teste de eclodibilidade

O teste de eclodibilidade de ovos foi realizado segundo metodologia descrita por Von Samson-Himmelstjerna et al. (2009). Avaliou-se, em quadruplicata, os seguintes tratamentos: controle negativo (água destilada), positivo (sulfóxido de albenzadol 0,25 mg mL^{-1} associado à dimetilssulfóxido - DMSO 0,75%), testemunha (DMSO 0,75%), e EHATM nas concentrações 0,625; 1,25; 2,5 e 5 mg mL^{-1} .

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 incubadas em estufa B.O.D. a 27 °C por 48 horas. Após, realizou-se contagem total dos ovos e larvas (de primeiro estágio L1), obtendo-se assim o percentual de eclodibilidade.

4.3.4. Teste de inibição da migração larval

O teste de inibição da migração larval foi realizado segundo metodologia descrita por Rabel et al. (1994). A solução de larvas L3 obtida na coprocultura foi homogeneizada e padronizada de forma a conter aproximadamente 150 larvas em cada 100 μL de solução. Foram avaliados os mesmos tratamentos supracitados, exceto pelo tratamento controle positivo cloridrato de levamisol (0,01 mg mL^{-1} , com 0,75% dimetilsulfóxido - DMSO).

Realizou-se avaliação dos tratamentos em triplicata, utilizando-se em microtubos 1 mL dos respectivos tratamentos e 100 μL da solução L3 com água.

Incubou-se em estufa à 37 °C por duas horas, e centrifugou-se a 6000 giros por 3 minutos. Foram retirados 900 μL e seus volumes permaneceram 200 μL . Para montagem do teste, foram utilizadas placas de cultura de 24 poços, cada um com um filtro de abertura 25 μm . Em cada filtro, foi acrescentado 1800 μL de cada tratamento e os 200 μL restantes dos microtubos respectivos a cada parcela.

As placas foram novamente incubadas em estufa por duas horas à 37 °C. Após os filtros foram retirados, e foi realizada a contagem de larvas migradas e retidas. Foram inativadas com Lugol e a leitura foi realizada em microscópio óptico com aumento de 40x.

A porcentagem de migração foi calculada por meio da fórmula $\% \text{migração} = [\text{Nm} / (\text{Nm} + \text{Nr})] \times 100$, onde Nm é o número de larvas L3 migradas através da malha e Nr é o número de larvas L3 retidas na malha.

Nos dois testes as médias foram comparados pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade por meio do software Statistica®.

4.3.5. Determinação do teor total de polifenóis, flavonoides, taninos condensados e atividade antioxidante do EHATM

O EHATM foi diluído nas concentrações 0,25; 0,50; 1; 1,5; 2 e 3 mg mL⁻¹ e avaliado em triplicata. A atividade antioxidante dos extratos foi determinada pela capacidade doadora de H⁺ para o radical estável DPPH. (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), de acordo com a metodologia, *in vitro*, proposta por Blios (1958). O cálculo da atividade antioxidante foi realizado de acordo com a fórmula: Atividade antioxidante (%) = $[(\text{Acontrole} - \text{Aamostra}) / \text{Acontrole}] \times 100$ onde Aamostra é a absorbância das amostras após 30 minutos (tempo de reação) e Acontrole é a absorbância do DPPH; ambos a 517 nm.

Para determinação de polifenóis totais, o método utilizado foi o de Folin-Ciocalteu. Os resultados foram expressos em mg de ácido gálico por g de extrato. O ácido gálico é precursor de diversos tipos de compostos fenólicos, possui estrutura simples, sendo é considerado substância de escolha como padrão (STAGOS et al., 2012).

A dosagem dos flavonoides totais foi determinada por espectrofotômetro UV-Vis segundo metodologia de Zhishen et al. (1999), baseado na complexação dos flavonoides com AlCl₃. Os resultados foram expressos em mg de rutina por g de extrato. A rutina, assim como a quercetina, apresenta estrutura básica de flavonoides, podendo ser empregada como indicador indireto de flavonoides.

A determinação do teor de taninos condensados foi procedida de acordo com a metodologia de Makkar (1994), adaptada por Fagbemi et al. (2005). Os resultados obtidos foram expressos em mg de ácido tânico por grama de extrato seco.

4.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Por meio da contagem de OPG, foram identificados ovos de tricostrongilídeos. Foi possível verificar atividade anti-helmíntica do EHATM na inibição tanto da eclosão quanto da migração larval. Os resultados corroboraram com outros pesquisadores que também registraram ação inibitória de plantas taníferas sobre eclodibilidade e migração de larvas de nematoides de ovinos (BIZIMENYERA et al., 2006; MACIEL et al., 2006; YOSHIHARA et al., 2014) (Tabela 4.1).

Tabela 4.1. Média aritmética das porcentagens de inibição de eclosão e de migração de larvas de terceiro estágio de nematódeos gastrintestinais de ovinos $\pm$ desvio padrão nos tratamentos extrato hidroalcoólico de trigo mourisco (EHATM) a 10 % em 4 concentrações, e controle negativo com água destilada (CN)

Tratamento (mg mL ⁻¹)	Média de inibição da eclosão (%)*	Média de inibição da migração (%)*
EHATM 0,625	11,69 ^{bc} $\pm$ 2,85	11,39 ^b $\pm$ 1,19
EHATM 1,25	19,66 ^a $\pm$ 0,45	11,63 ^b $\pm$ 1,76
EHATM 2,5	15,63 ^{ab} $\pm$ 5,44	17,04 ^a $\pm$ 0,75
EHATM 5	8,65 ^{cd} $\pm$ 1,24	17,66 ^a $\pm$ 1,35
CN – Água destilada	5,37 ^d $\pm$ 0,75	4,81 ^c $\pm$ 0,40
Coefficiente de variação (%)	47,11	39,36

*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Para os controles positivos, sulfóxido de albendazol 0,25 mg mL⁻¹ apresentou 100 % de inibição da eclosão e o cloridrato de levamisol 0,01 mg mL⁻¹ apresentou 89 % de inibição da migração larval. O tratamento testemunha DMSO não diferiu significativamente do controle negativo, apresentando inibição para o teste de eclosão de 9,60 % e para o teste de migração, 7,14 %. Como foi utilizado DMSO para diluição dos anti-helmínticos químicos, justificou-se a inclusão do tratamento testemunha em questão.

A atividade anti-helmíntica do EHATM pode ser devida ao teor de taninos condensados, que na concentração 3 mg mL⁻¹ atingiu 288,89 mg equivalente ácido tânico por grama de extrato (Tabela 4.2).

Tabela 4.2. Valores médios referentes à polifenóis totais, taninos condensados, flavonoides e atividade antioxidante para as diferentes concentrações em mg mL⁻¹ do extrato hidroalcoólico de trigo mourisco a 10% (EHATM).

Concentração EHATM em mg mL ⁻¹	Polifenóis (mg equiv. ác. gálico p/ g de EHATM)	Taninos (mg equiv. ác. tânico p/ g de EHATM)	Flavonoides (mg equiv. rutina p/g de EHATM)	Atividade Antioxidante (AA%)
2,5	19,18	*	0,57	4,79
5	38,31	17,23	13,62	8,44
10	53,00	70,44	19,19	15,90
15	57,04	126,15	22,95	21,59
20	50,99	176,15	25,07	27,22
30	54,33	288,89	31,00	38,71

*Valores fora da curva

Bizimenyera et al. (2006) relataram 100% de inibição da eclosão de larvas de *Trichostrongylus colubriformis* com 0,025 mg mL⁻¹ de extratos de diferentes partes de *Beltophorum africanum*. Maciel et al. (2006) trabalharam com a mesma planta na mesma concentração e verificaram que o extrato etanólico das folhas inibiu 100% da eclosão de larvas de *H. contortus*, enquanto que o extrato hexânico na concentração 0,050 mg mL⁻¹ inibiu apenas 16,92% da eclosão.

Alonso-Díaz et al. (2008) verificaram que o extrato de quatro plantas na concentração 1,2 mg mL⁻¹ inibiu de 49,1 a 63,8% a migração de larvas L3 de *H. contortus*. Yoshihara et al. (2014) necessitaram de 100 mg mL⁻¹ de extrato comercial de *Acacia mearnsii* para obter 97,1% de inibição da migração larval. Além da ação anti-helmíntica, o extrato causou alterações ultraestruturais nos parasitos adultos de *Haemonchus contortus* após contato *in vitro* e *in vivo* (YOSHIHARA et al., 2015).

O EHATM apresentou atividade antioxidante (AA%) em todas as concentrações testadas, atingindo 38,71% na concentração 3 mg mL⁻¹ (Tabela 4.2). O IC_{50%} correspondeu a 3,83 mg mL⁻¹. Segundo Sun e Ho (2005), o trigo mourisco apresenta efetiva atividade antioxidante quando comparado à antioxidantes naturais, sendo que antioxidantes naturais podem ter o potencial de prevenir a oxidação dos lipídeos dos alimentos. Karamac' (2010) verificou que a atividade antioxidante da fração de taninos dos compostos fenólicos do trigo mourisco apresentaram IC_{50%} correspondente a 0,019 mg mL⁻¹. Comparando com dados da literatura sobre outras plantas como avelã e nozes chegou à conclusão que o trigo mourisco é altamente antioxidante (KARAMAC', 2010). O presente estudo apresentou valores maiores,

entretanto, a atividade antioxidante foi determinada por meio do EHATM, enquanto que no estudo de Karamac' (2010) a atividade antioxidante foi determinada diretamente das frações de taninos.

Na concentração 3 mg mL^{-1} , para flavonoides e polifenóis totais, foram observados 31 mg equivalente rutina e 54,33 mg equivalente ácido gálico por grama de extrato, respectivamente. Para fenóis totais, a concentração máxima já foi atingida na concentração 1 mg mL^{-1} .

Como constituintes, o trigo mourisco ainda apresenta rutina, um bioflavonoide útil no tratamento de diferentes afecções clínicas, principalmente devido à sua ação antioxidante (KARAMAC', 2010). Flavonoides podem apresentar ação antimicrobiana, devido ao rompimento e destruição das membranas microbianas, pela formação de complexos da parede bacteriana com proteínas solúveis (SOLDERA et al., 2010). Este fato representa vantagem adicional considerando a possibilidade da ocorrência de infecções bacterianas secundárias às parasitoses gastrointestinais. Da mesma forma, a atividade antioxidante dos flavonoides é importante devido ao controle da produção de radicais livres (SOUSA et al., 2007). A maior concentração de rutina no trigo mourisco se encontra nas folhas e flores (VOJTÍŠKOVÁ et al., 2012). Apesar disto, no presente estudo foram utilizadas sementes do trigo mourisco, pois o objetivo foi avaliar a atividade anti-helmíntica no que se refere ao teor de taninos, que se encontram em maiores quantidades nas sementes (AHMED et al., 2014).

Além da ação anti-helmíntica direta que o EHATM apresentou, o trigo mourisco ainda pode apresentar ação indireta devido aos estímulos imunitários que a dieta proteica determina sobre o favorecimento no combate à verminose. Suplementação proteica determina redução dos valores de ovos por grama de fezes (VELOSO et al., 2014; IGARASHI et al., 2013).

Aos 51 dias após a semeadura, Klein et al. (2010) encontraram teores de proteína bruta (PB) em um cultivar de trigo mourisco tardio e precoce respectivamente 17,27 % e 15 %. Esses valores são superiores à gramíneas comumente utilizadas como forragem. Italiano e Araújo Neto (2006) encontraram 11,53 % de PB em *Andropogon*, 10,58 % em Tanzânia e 9,15 % em Tifton - 85. Görgen (2013) encontrou num cultivar de trigo mourisco teores de proteína bruta aos 47 dias e 57 dias respectivamente 23,8 % e 14,7 %. Alencastro (2014) encontrou num dos cultivares testados aos 50 e 70 dias 12,73 % e 11,13 % respectivamente. O menor teor é devido ao fato de que o avanço da maturidade do trigo mourisco ocasiona redução nos teores de PB, sendo que os maiores teores são observados no estágio vegetativo, reduzindo após o florescimento. O resultado da análise da forragem de trigo

mourisco foi promissor para alimentação animal, principalmente para gado leiteiro no outono, época com problema de falta de forragem (KLEIN et al., 2010).

Adicionalmente, o trigo mourisco possui alto teor de lisina, um aminoácido essencial deficiente na maioria dos cereais, demonstrando potencial na alimentação animal (JOSHI; PADORA, 1991; KUNACHOWICZ et al., 1996). O trigo mourisco também pode agir como forragem funcional, manipulando a fermentação ruminal e proporcionando redução na formação de metano em 12% (AMELCHANKA et al., 2010; LEIBER et al., 2012).

4.5. CONCLUSÃO

Para as condições avaliadas pelo presente estudo, foi possível verificar atividade anti-helmíntica e antioxidante, demonstrando o potencial do EHATM no controle parasitológico de ovinos.

5. CONCLUSÕES GERAIS

O trigo mourisco possui diversos benefícios à agricultura, pecuária bem como à nutrição humana. Portanto, é uma cultura que deve ser melhor explorada em diferentes regiões do mundo.

Para as condições avaliadas pelo presente estudo, foi possível verificar atividade anti-helmíntica e antioxidante, demonstrando o potencial do EHATM no controle parasitológico de ovinos.

REFERÊNCIAS

AHMED, A.; KHALID, N.; AHMAD, A.; ABBASI, N.A.; LATIF, M.S.Z.; RANDHAWA, M.A. Phytochemicals and biofunctional properties of buckwheat: a review. **Journal of Agricultural Science**, v.152, p.349-369, 2014.

ALENCASTRO, R.B.G. **Produtividade e qualidade da forragem de trigo mourisco (*Fagopyrum esculentum* Möench L.) para a alimentação de ruminantes**. 49f. Dissertação (Mestrado em Ciências Animais) - Universidade de Brasília, Brasília, 2013.

ALONSO-DÍAZ, M.A.; TORRES-ACOSTA, J.F.J.; SANDOVAL-CASTRO, C.A.; AGUILAR-CABALLERO, A.J.; HOSTE, H., *In vitro* larval migration and kinetics of exsheathment of *Haemonchus contortus* larvae exposed to four tropical tanniniferous plant extracts. **Veterinary Parasitology**, v.153, p.313-319, 2008.

ALVES, A.; SANTOS, A.L.S.; AZEVEDO, R.M.M.C. Agricultura orgânica no Brasil: sua trajetória para a certificação compulsória. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.7(2), p.19-27, 2012

AMARANTE, A.F.T.; BRICARELLO, P.A.; ROCHA, R.A.; GENNARI, S.M. Resistance of Santa Inês, Suffolk and ile de France sheep to naturally acquired gastrointestinal nematode infections. **Veterinary Parasitology**, v.120, p.91-106, 2004.

AMELCHANKA, S.L.; KREUZER, M.; LEIBER, F. Utility of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) as feed: Effects of forage and grain on *in vitro* ruminal fermentation and performance of dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v.155, p.111-121, 2010.

ARAÚJO, A.C. Agricultura, meio ambiente e sustentabilidade: um diálogo entre Carlos Walter Porto-Gonçalves e Enrique Leff. **Campo-Território: revista de geografia agrária**, v.8, p. 1-6, 2013.

ARAÚJO FILHO, J.A.; VASCONCELOS, H.E.M. Produção orgânica de carne de ovinos e caprinos. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE O AGRONEGÓCIO DA CAPRINOCULTURA LEITEIRA, 1; SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE CAPRINOS E OVINOS DE CORTE, 2; ESPAÇO APRISCO NORDESTE, 1., 2003, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: EMEPA, 2003. p. 233-242.

ARBOS, K.A. **Qualidade sanitária e nutricional de hortícolas orgânicas**. 162f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 2009.

BATATINHA, M.J.M.; ALMEIDA, G.A.; DOMINGUES, L.F.; SIMAS, M.M.S.; BOTURA, M.B.; GUEDES, A.C.F.; ALMEIDA, M.A.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.

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, p.336-343, 2006.

BLIOS, M.S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. **Nature**, v.26, p.1199-1200, 1958.

BONAFACCIA, G.; FABJAN, N. Nutritional comparison of tartary buckwheat with common buckwheat and minor cereals. **Zbornik Biotehnike fakultete Univerze v Ljubljani Kmetijstvo**, v.81, p. 349-355, 2003.

BERRY, S.D.; RAMOUTHAR, P. More nematicide trials: looking for a replacement for Temik. **The Link**, v.21(2), p.8-9, 2012.

BERRY, S.; RHODES, R. Green manure crops: agronomic characteristics and effects on nematodes. **Proceedings of the South African Sugar Technologists' Association**, v.80, p.269-273, 2006.

BRUNET, S.; MONTELLANO, C.M.; TORRES-ACOSTA, J.F.; SANDOVAL-CASTRO, C.A.; AGUILAR-CABALLERO, A.J.; CAPETILLO-LEAL, C.; HOSTE, H. Effect of the consumption of *Lysiloma latisiliquum* on the larval establishment of gastrointestinal nematodes in goats. **Veterinary Parasitology**, v.157, p.81-88, 2008.

CAMPBELL, C.G. **Buckwheat, *Fagopyrum esculentum* Moench**. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 19. Rome: International Plant Genetic Resources Institute, 93p., 1997.

CASEMIRO A.D.; TREVIZAN, S.D.P. **Alimentos orgânicos: desafios para o domínio público de um conceito**. 2nd International Workshop Advances in Cleaner Production, São Paulo, 2009.

CAVALCANTE, A. C. R.; HOLANDA JUNIOR, E. V.; SOARES, J. P. G. **Produção orgânica de ovinos e caprinos**. Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral, 2007. Disponível em: <<http://www.cnpc.embrapa.br/admin/pdf/000500120111.doc69.pdf>>. Acesso em: 15 dez. 2015.

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.

CÉSAR, A. DA S.; BATALHA, M.O.; PIMENTA, M.L. A certificação orgânica como fator estratégico na governança das transações no mercado de alimentos. **Organizações Rurais & Agroindustriais**, v.10, p.376-386, 2008.

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

DE ZEN, S.; SANTOS, M.C.; MONTEIRO, C.M. Evolução da caprino e ovinocultura. **Ativos da Pecuária de Caprino e Ovinocultura** v.1, 2014.

DEMIN, M.A.; VUCELIĆ-RADOVIĆ, B.V.; BANJAC, N.R.; TIPSINA, N.N.; MILOVANOVIĆ, M.M. Buckwheat and Quinoa seeds as supplements in wheat bread production. **Hemijaska Industrija**, v.67(1), p.115–121, 2013.

EDWARDSON, S; JANICK, J. **Buckwheat**: pseudocereal and nutraceutical. In: NATIONAL SYMPOSIUM INDIANAPOLIS, 3. 1996, Indiana. Proceedings: progress in new crops. [S. 1: s. n.], p.195-207, 1996.

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**, v.4(4), p.250-256, 2005.

FAOSTAT (Food and Agricultural Organization of the United Nations Statistics). FAO Statistical Databases. Accessed online at: <<http://faostat.fao.org/>>. FAO, Rome, Italy, 2013.

FURLAN, A. C. et al. Avaliação nutricional do trigo mourisco (*Fagopyrum esculentum*, Moench) para coelhos em crescimento. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v.28, p. 21-26, 2006.

GIANLORENÇO, V.K. **Produção de carne ovina pode ser mais rentável que bovina**. SEBRAE-SP, São Paulo, mar. 2013. Disponível em: <<http://www.sebraesp.com.br/index.php/165-produtosonline/administracao/publicacoes/>>

artigos/8030-producao-de-carne-ovina-pode-ser-mais-rentavel-que-bovina>. Acesso em 13 dez. 2015.

GOEPFERT, C. **O trigo mourisco**. 12p. Getúlio Vargas, RS: [S.n.], 1968.

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, p.781-786, 1999.

GÖRGEN, A.V. **Produtividade e qualidade da forragem de milheto (*Pennisetum glaucum* (L.) R.BR) e de trigo mourisco (*Fagopyrum esculentum* Moench) cultivado no cerrado**. Monografia (Graduação em Agronomia) - Universidade de Brasília, Brasília, 2013.

GÜETTER, C. **Ovinocultura: atividade em ampla expansão**. O Paraná, Cascavel, ago. 2011. Disponível em: <<http://www.oparana.com.br/rural/ovinocultura-atividade-em-ampla-expansao-600/>>. Acesso em 13 dev. 2015.

HEFFLER, E.; PIZZIMENTI, S.; BADIU, I.; GUIDA, G.; ROLLA, G. Buckwheat allergy: an emerging clinical problem in Europe. **Journal of Allergy and Therapy**. v.5, p.168, 2014.

HINNEBURG, I.; NEUBERT, R.H.H. Influence of extraction parameters on the phytochemical characteristics of extracts from buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) herb. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, p.3–7, 2005.

HOSTE, H.; TORRES-ACOSTA, J.F.J. 2011. Non chemical control of helminths in ruminants: adapting solutions for changing worms in a changing world. **Veterinary Parasitology**, v.180, p.144-154, 2011.

HOUDIJK, J.G.M.; KYRIAZAKIS, I.; KIDANE, A. Manipulating small ruminant parasite epidemiology through the combination of nutritional strategies. **Veterinary Parasitology**, v.186, p.38-50, 2012.

HURST, S. **The plants database**. Greensboro: National Plant Data Team, 2015.

IBGE. Produção da Pecuária Municipal. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**, v. 38, 2010.

IFOAM. **General Assembly em Mar Del Plata**. Argentina, nov. 1998.

IGARASHI, M.; CARVALHO, D.M.G.; BUCCI, F.M.; MIRANDA, Y.; RODRIGUES, Z.M.; ALMEIDA, M.C.F.; PIONA, M.N.M. Efeito do neem (*Azadirachta Indica*) no controle de nematódeos gastrintestinais em ovinos suplementados a pasto no período seco. **Semina: Ciências Agrárias**, v.34, p.301-310, 2013.

IKEDA, S.; YAMASHITA, Y.; KREFT, I. Mineral composition of buckwheat by products and its processing characteristics. **Fagopyrum**, v.16, p.89-94, 1999.

IKEDA, S.; TOMURA, K.; KREFT, I. Nutritional characteristics of iron in buckwheat flour. **Fagopyrum**, v.19, p.79-82, 2002.

IKEDA, S.; YAMASHITA, Y.; TOMURA, K.; KREFT, I. Nutritional comparison in mineral characteristics between buckwheat and cereals. **Fagopyrum**, v.23, p.61-65, 2006.

ITALIANO, E.C.; ARAÚJO NETO, R.B. Desempenho produtivo de ovinos em pastagem cultivada. **Embrapa: Circular Técnica** 42, 2006.

JOSHI, B. D.; PADORA, R. S. Buckwheat in India. Phagli: **National Bureau of Plant Genetic resources Regional Station**, v.16 p.7-11, 1991.

JOSHI, B.R.; KOMMURU, D.S.; TERRILL, T.H.; MOSJIDIS, J.A.; BURKE, J.M.; SHAKYA, K.P.; MILLER, J.E. Effect of feeding *Sericea lespedeza* leaf meal in goats experimentally infected with *Haemonchus contortus*. **Veterinary Parasitology**, v.178, p.192-197, 2011.

KÄLBER, T.; MEIER, J.S.; KREUZER, M.; LEIBER, F. Flowering catch crops used as forage plants for dairy cows: influence on fatty acids and tocopherols in milk. **Journal of Dairy Science**, v.94, p.1477-1489, 2011.

KALINOVA, J.; TRISKA, J.; VRCHOTOVA, N. Distribution of vitamin E, squalene, epicatechin, and rutin in common buckwheat plants (*Fagopyrum esculentum* Moench). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.54, p.5330–5335, 2006.

KARAMAC', M. Antioxidant activity of tannin fractions isolated from buckwheat seeds and groats. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.87, p.559-566, 2010.

KAUTZ, T.; WIRTH, S.; ELLMER, F. Microbial activity in a sandy arable soil is governed by the fertilization regime. **European Journal of Soil Biology**, v.40, p.87–94, 2004.

KETZIS, J.K.; VERCRUYSSSE, J.; STROMBERG, B.E.; LARSEN, M.; ATHANASIADOU, S.; HOUDIJK, J.G. Evaluation of efficacy expectations for novel and non-chemical helminth control strategies in ruminants. **Veterinary Parasitology**, v.139, p.321-335, 2006.

KLEIN, V.A.; NAVARINI, L.L.; BASEGGIO, M.; MADALOSSO, T.; COSTA, L.O. Trigo mourisco: uma planta de triplo propósito e uma opção para rotação de culturas em áreas sob plantio direto. **Revista Plantio Direto**, v.117, 2010.

KREFT, I.; SKRABANJA, V.; VADNAL, K.; DEDEK, G.; SLABE, A. **Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) utilisation in Slovenia**. Zbornik Biotehniske Fakultete Univerze v Ljubljani, Kmetijstvo, v.69, p. 67-70, 1997.

KUNACHOWICZ, H.; NADOLNA, I.; KLYS, W.; IWANOW, K.; RUTKOWSKA, U. Evaluation of the nutritive value of some gluten-free products. **Zywnienie Człowieka i Metabolizm, Warszawa**, v.23, p.99-109, 1996.

LEIBER, F.; KUNZ, C.; KREUZER, M. Influence of different morphological parts of buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) and its major secondary metabolite rutin on rumen fermentation *in vitro*. **Czech Journal of Animal Science**, v.57(1), p.10-18, 2012.

LIN, L.Y.; LIU, H.M.; YU, Y.W.; LIN, S.D.; MAU, J.L. Quality and antioxidant property of buckwheat enhanced wheat bread. **Food Chemistry**, v.112, p.987-991, 2009.

MACIEL, M.V.; MORAIS, S.M.; BEVILAQUA, C.M.L.; CAMURÇA-VASCONCELOS, A.L.F.; COSTA, C.T.C.; CASTRO, C.M.S. Ovicidal and larvicidal activity of *Melia Azedarach* extracts on *Haemonchus contortus*. **Veterinary Parasitology**, v.140, p.98-104, 2006.

MADRUGA, A.M.; CHAGAS, R.A.; BIANCHINI, B.D.; SANTOS, P.M.; LOPES, P.R.S.; CORRÊA, G.F. Avaliação da eficácia de anti-helmínticos e da resistência aprasitária em ovinos - resultados preliminares. In: ANAIS DO VII SALÃO INTERNACIONAL DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO - UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA, 2015, Alegrete. **Anais eletrônicos...** Alegrete: UNIPAMPA, 2015. Disponível em: <<http://seer.unipampa.edu.br/index.php/siepe/article/view/16494/5542>>. Acesso em: 20 jan. 2016.

MAKKAR, H.P.S. **Quantification of tannins: A laboratory manual**. International Centre for Agricultural Research in the Dry Area (ARDA). Aleppo, Syria, 1994.

MANCINELLI, R.; MARINARI, S.; DI FELICE, V., SAVIN, M.C., CAMPIGLIA, E. Soil property, CO₂ emission and aridity index as agroecological indicators to assess the

mineralization of cover crop green manure in a Mediterranean environment. **Ecological Indicators**, v.34, p.31-40, 2013.

MANICI, L.M.; CAPUTO, F.; BABINI, V. Effect of green manure on *Pythium* spp. population and microbial communities in intensive cropping systems. **Plant Soil**, v.263, p.133–142, 2004.

MAX, R.A.; KASSUKU, A.A.; KIMAMBO, A.E.; MANTEGA, L.A.; WAKELIN, D.; BUTTERY, P.J. The effect of wattle tannin drenches on gastrointestinal nematodes of tropical sheep and goats during experimental and natural infections. **Journal of Agricultural Science**, v.147, p.211-218, 2009.

MINHO, A.P.; BUENO, I.C.S.; LOUVANDINI, H.; JACKSON, F.; GENNARI, S.M.; ABDALLA, A.L. Effect of Acacia molissima tannin extract on the control of gastrointestinal parasites in sheep. **Animal Feed Science Technology**, v.147, p.172-181, 2008.

MUPEYO, B.; BARRY, T.N.; POMROY, W.E.; RAMÍREZ-RESTREPO, C.A.; LÓPEZ-VILLALOBOS, N.; PERNATHNER, A. Effects of feeding willow (*Salix* spp.) upon death of established parasites and parasite fecundity. **Animal Feed Science and Technology**, v.164, p.8-20, 2011.

MYERS, R.L.; MEINKE, L.J. **Buckwheat: A Multi-Purpose, Short-Season Alternative**. Missouri: University of Missouri Extension, 1994. Disponível em: <<http://extension.missouri.edu/p/G4306>>. Acesso em: 15 de fev. de 2014.

NEVES, D.A.L.; SOARES, J.P.G.; CARVALHO, J.M. Produção de carne bovina orgânica: uma avaliação dos impactos socioeconômicos na região do pantanal do Brasil. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v.9(1), p.71-92, 2016.

NEVES, M. C. P.; ALMEIDA, D. L. de; DE-POLLI, H.; GUERRA, J. G. M.; RIBEIRO, R. de L. D. **Agricultura orgânica - uma estratégia para o desenvolvimento de sistemas agrícolas sustentáveis**. Seropédica: EDUR, 98p., 2004.

OLIVEIRA, L.M.B.; BEVILAQUA, C.M.L.; MORAIS, S.M.; CAMURÇA-VASCONCELOS, A.L.F.; MACEDO, I.T.F. Plantas taniníferas e o controle de nematóides gastrintestinais de pequenos ruminantes. **Ciência Rural**, v.41, p.1967-1974, 2011.

OMARY, M.B.; FONG, C.; ROTHSCILD, J.; FINNEY, P. Effects of germination on the nutritional profile of gluten-free cereals and pseudocereals: a review. **Cereal Chemistry**, v.89(1), p.1-14, 2014.

OTERO, M.J.; HIDALGO, L.G. Taninos condensados en especies forrajeras de clima templado: efectos sobre la productividad de rumiantes afectados por parasitosis gastrointestinales (una revisión). **Livestock Research for Rural Development**, v.16, 2004.

PACE, T. **Cultura do trigo sarraceno**: história, botânica e economia. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, Serviço de Informação Agrícola, 71p., 1964.

PARK, J.W.; KANG, D.B.; KIM, C.W.; KO, S.H.; YUM, H.Y.; KIM, K.E.; HONG, C.S.; LEE, K.Y. Identification and characterization of the major allergens of buckwheat, **Allergy**, v.55, p.1035-1041, 2000.

PASQUALETTO, A.; LEANDRO, W.M.; BATISTA, R.G.; BERNON, N.; SCHIRA, G. Levantamento da flora emergente de plantas daninhas em sistemas de cobertura de solo. **Pesquisa Agropecuária Tropical (UFG)**, v.29, p. 127-134, 1999.

PEDUZZI, P. Participação da agropecuária no PIB sobe para 23% em 2015. **Agência Brasil**, 2015. Disponível em: <<http://agenciabrasil.ebc.com.br/economia/noticia/2015-12/participacao-da-agropecuaria-no-pib-sobe-para-23-em-2015>>

QIN, P.; WANG, Q.; SHAN, F.; HOU, Z.; REN, G. Nutritional composition and flavonoids content of flour from different buckwheat cultivars. **International Journal of Food Science and Technology**, v.45, p.951-958, 2010.

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**, v.24, n.5, p.671-676, 1994.

RESENDE, F.D. Produção de carne orgânica. **Revista Casa da Agricultura**. v.16(1), p.25-26, 2013.

RHODES, R.; BERRY, S.D.; RAMOUTHAR, P.V.; RUTHERFORD, R.S. Evaluation of *Desmodium uncinatum*, *Fagopyrum esculentum* and *Brachiaria humidicola* as potential green manure crops for nematode management in sugarcane. **South African Journal of Plant and Soil**, v.31(1), p.25-33, 2014.

ROSALINSKI-MORAES, F.; MORETTO, L.H.; BRESOLIN, W.S.; GABRIELLI, I.; KAFER, L.; ZANCHET, I.K.; SONAGLIO, F.; THOMAZ-SOCCOL, V. Resistência anti-helmíntica em rebanhos ovinos da região da associação dos municípios do Alto Irani (Amai), oeste de Santa Catarina. **Ciência Animal Brasileira**, v.8, p.559-565, 2007.

ROSSI, G.A.M.; LEMOS, P.P.L. Comparação da produção animal entre os sistemas orgânico e o convencional. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v.11(1), p.6-13, 2013.

SAMAC, D.A.; LAMB, J.F.S.; KINKEL, L.L.; HANSON, L. Effect of wheel traffic and green manure treatments on forage yield and crown rot in alfalfa (*Medicago sativa*). **Plant Soil**, v.372, p.349-359, 2013.

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

SCZESNY-MORAES, E.A.; BIANCHIN, I.; SILVA, K. F.; CATTO, J.B.; HONER, M.R.; PAIVA, F. Resistência anti-helmíntica de nematoides gastrintestinais em ovinos, Mato Grosso do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30, p.229-236, 2010.

SMITH, H.L. Buckwheat-poisoning with report of a case in man. **Archives of Internal Medicine**, v.11, p.193-196, 1909.

SMITH, D.G. *Fagopyrum esculentum* Moench buckwheat. St. Jones Reserve, 2007. Disponível em: <<http://www.discoverlife.org/20/q?search=Fagopyrum+esculentum>>

SOCOL, V. T.; POHL-DE-SOUZA, F. Contribuição para o estudo da resistência dos helmintos gastrointestinais de ovinos (*Ovis aries*) aos anti-helmínticos, no Estado do Paraná. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.6, p.217 (Resumo), 1997.

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

SOUSA, C.M.M.; SILVA, H.R.; VIEIRA-JR, G.M.; AYRES, M.C.C.; COSTA, C.L.S.; ARAÚJO, D.S.; CAVALCANTE, L.C.D.; BARROS, E.D.S.; ARAÚJO, P.B.M.; BRANDÃO, M.S.; CHAVES, M.H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v.30, p.351-355, 2007.

STAGOS, D., PORTESIS, N., SPANOU, C., MOSSIALOS, D., ALIGIANNIS, N., CHAITA, E., PANAGOULIS, C., RERI, E., SKALTSOUNIS, L., TSATSAKIS, A.M., KOURETAS, D. Correlation of total polyphenolic content with antioxidant and antibacterial activity of 24 extracts from Greek domestic Lamiaceae species. **Food and Chemical Toxicology**, v.50, p.4115-4124, 2012.

STEADMAN, K.J.; BURGOON, M.S.; LEWIS, B.A.; EDWARDSON, S.E.; OBENDORF, R.L. Minerals, phytic acid, tannin and rutin in buckwheat seed milling fractions. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.81, p.1094-1100, 2001.

SUN, T.; HO, C.T. Antioxidant activities of buckwheat extracts. **Food Chemistry**, v.90, p. 743–749, 2005.

SZPATOWSKI, J.M. **Vermínoses causam grandes prejuízos ao produtor**. Portal Dia de Campo, Rio de Janeiro, 2010. Disponível em: <<http://www.diadecampo.com.br/zpublisher/materias/Materia.asp?id=21141&secao=Sanidade+Animal>>. Acesso em 13 fev. 2014.

TEJADA, M.; GONZALEZ, J.L.; GARCIA-MARTINEZ, A.M.; PARRADO, J. Effects of different green manures on soil biological properties and maize yield. **Bioresour. Technol.**, v.99, p.1758–1767, 2008.

THOMÉ, O.W. **Flora von Deutschland, Österreich und der Schweiz**, 868p, 1903.

TOHGI, K.; KOHNO, K.; TAKAHASHI, H.; MATSUO, H.; NAKAYAMA, S.; MORITA, E. Usability of Fag e 2 ImmunoCAP in the diagnosis of buckwheat allergy. **Archives of Dermatological Research**, v.303, p.635-642, 2011.

UENO, H.; GONÇALVES, P.C. **Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes**. 4ª ed. Tokyo. Japan Internacional Cooperation Agency, 149f., 1998.

VALENZUELA, H.; SMITH, J. **Buckwheat. Sustainable Agriculture: Green Manure Crops SA-GM-4**. Mānoa: Cooperative Extension Service, University of Hawai'i, 2002.

VELOSO, C.F.M.; LOUVANDINI, H.; KIMURA, E.A.; AZEVEDO, C.R.; ENOKI, D.R.; FRANÇA, L.D.; MCMANUS, C.M.; DELL'PORTO, A.; SANTANA, A.P. Efeitos da suplementação proteica no controle da verminose e nas características de carcaça de ovinos Santa Inês. **Ciência Animal Brasileira**, v.5(3), p.131-139, 2004.

VIEIRA, L.S.; BERNE, M.E.A.; CAVALCANTE, A.C.R.; COSTA, C.A.F. *Haemonchus contortus* resistance to ivermectin and netobimin in Brazilian sheep. **Veterinary Parasitology**, v.45, p.111-116, 1992.

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

VILA NOVA, L.E.; COSTA, M.E.; MELO, P.G.C.F.; CUNHA FILHO, L.F.C.; BARCA JUNIOR, F.A.; SILVA, L.C.; OKANO, W.; BOGADO, A.L.G. Resistência de nematoides aos anti-helmínticos nitroxinil 34% e ivermectina 1% em rebanho ovino no município de São João do Ivaí, Paraná. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v.8(1), p.160-171, 2014.

VOJTÍŠKOVÁ, P.; KMENTOVÁ, K.; KUBÁŇ, V.; KRÁČMAR, S. Chemical composition of buckwheat plant (*Fagopyrum esculentum*) and selected buckwheat products. **Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Science**, v.1, p.1011-1019, 2012.

VON SAMSON-HIMMELSTJERNA, G.; COLES, G.C.; JACKSON, F. Standization of egg hatch test for the detection of benzimidazole resistance in parasitic nematodes. **Parasitology Research**, v.105, p.825-834, 2009.

WIESLANDER, G.; NORBÄCK, D. Buckwheat allergy. **Allergy**, v.56, p.703-704, 2001.

WIJNGAARD, H.H.; ARENDT, E.K. Buckwheat. **Cereal Chemistry**, v.83(4), p.391-401, 2006.

YADAV, R.L.; DWIVEDI, B.S.; PANDEY, P.S. Rice-wheat cropping system: assessment of sustainability under green manuring and chemical fertilizer inputs. **Field Crops Research**, v.65, p.15-30, 2000.

YOSHIHARA, E.; MINHO, A.P.; CARDIM, S.T.; TABACOW, V.B.D.; YAMAMURA, M.H. *In vitro* ovicidal and larvicidal activity of condensed tannins on gastrointestinal nematode infestations in sheep (*Ovis aries*). **Semina: Ciências Agrárias**, v.35(6), p.3173-3180, 2014.

YOSHIHARA, E.; MINHO, A.P.; TABACOW, V.B.D.; CARDIM, S.T.; YAMAMURA, M.H. Ultrastructural changes in the *Haemonchus contortus* cuticle exposed to *Acacia mearnsii* extract. **Semina: Ciências Agrárias**, v.36(6), p.3763-3768, 2015.

ZEOLA, N.M.B.L.; SOBRINHO, A.G.S.; MANZI, G.M. Composição regional e centesimal da carcaça de cordeiros criados nos sistemas de produção orgânico e convencional. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.2963-2970, 2011.

ZHISHEN, J.; MENGCHENG, T.; JIANMING, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food Chemistry**, v.64, p.555-559, 1999.

ZHOU, M.L.; BAI, D.Q.; TANG, Y.; ZHU, X.M.; SHAO, J.R. Genetic diversity of four new species related to southwestern Sichuan buckwheats as revealed by karyotype, ISSR and allozyme characterization. **Plant Systematics and Evolution**, v.298, p.751-759, 2012.