



RENORBIO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

**BIOPROSPECÇÃO DE PRODUTOS VEGETAIS DO CERRADO
MARANHENSE COM ATIVIDADE ANTI-HELMÍNTICA**

ANDRÉIA FREITAS DE OLIVEIRA

São Luís-MA

2016

ANDREIA FREITAS DE OLIVEIRA

**BIOPROSPECÇÃO DE PRODUTOS VEGETAIS DO CERRADO
MARANHENSE COM ATIVIDADE ANTI-HELMÍNTICA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO), ponto focal Universidade Federal do Maranhão (UFMA), como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Biotecnologia.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Livio Martins Costa Junior

São Luís-MA

2016

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

Oliveira, Andréia Freitas de.

BIOPROSPECÇÃO DE PRODUTOS VEGETAIS DO CERRADO
MARANHENSE COM ATIVIDADE ANTI-HELMÍNTICA / Andréia Freitas
de Oliveira. - 2016.
110 f.

Orientador(a): Livio Martins da Costa Júnior.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em
Biotecnologia - Renorbio/ccbs, Universidade Federal do
Maranhão, São Luís, 2016.

1. Bioprospecção. 2. Haemonchus contortus. 3.
Pequenos ruminantes. 4. Produtos naturais. I. Costa
Júnior, Livio Martins da. II. Título.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

Fundação Instituída nos termos da Lei nº 5.152, de 21/10/1966 - São Luís - Maranhão

CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE – CCBS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA



Rede Nordeste de Biotecnologia
Coordenação Geral - Universidade Federal Rural de Pernambuco
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação

Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n - Dois Irmãos - CEP: 52171-600 Recife-PE
Telefone (81) 3320-8050, 3320-8051 E-mail: renorbio@prppg.ufpe.br
Homepage: <http://www.renorbio.org.br>

FOLHA APROVAÇÃO DEFESA DE TESE

ALUNO: Andréia Freitas de Oliveira

TÍTULO DO PROJETO: "BIOPROSPECÇÃO DE PRODUTOS VEGETAIS DO CERRADO MARANHENSE COM ATIVIDADE ANTI-HELMÍNTICA".

PROFESSOR ORIENTADOR: Livio Martins Costa Júnior

BANCA EXAMINADORA:	CONCEITO	ASSINATURA
Prof. Dr. Livio Martins Costa Júnior – UFMA (Presidente)	_____	_____
Prof. Dr. Herve Hosté – INRA/Toulouse (Titular)	_____	_____
Prof. Dr. Pedro Geraldo González Pech – UADY (Titular)	_____	_____
Profª. Drª. Rosane Nassar Melreles Guerra – UFMA (Titular)	_____	_____
Profª. Drª. Flávia Raquel Fernandes do Nascimento – UFMA (Titular)	_____	_____

DATA DA APROVAÇÃO: 03 de Agosto de 2016

HORÁRIO: Às 14:00h.

LOCAL: No prédio de Pós-Graduação do CCBS-UFMA.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por ter me abençoado e me dado forças para concluir mais essa etapa da minha vida.

Ao meu orientador professor Dr. Livio Martins Costa Júnior por ter me recebido em seu laboratório, pela sua orientação e dedicação.

Ao Prof. Hervé Hoste e estagiários do Laboratório de Parasitologia, da ENVT-Toulouse-França, por me receber para realização de parte de meus experimentos, além de todo ensinamento e paciência.

A Professora Maria Nilce Ribeiro por ceder espaço no Laboratório de Farmacognosia da Universidade Federal do Maranhão, e em especial a José Wilson Mesquita e Marisa Aranha pela preparação e realização das análises dos extratos utilizados nesse trabalho.

A Professora Cláudia Rocha por ceder espaço no Laboratório de Produtos naturais da Universidade Federal do Maranhão, para realização das análises dos extratos utilizados nesse trabalho.

A todos os informantes do trabalho de etnoveterinária, em especial ao seu José Manoel que ajudou na realização do levantamento etnoveterinário.

Aos meus colegas e de laboratório (LCA-LCP) que contribuíram de maneira especial para o desenvolvimento desse trabalho, com apoio, conversas, sorrisos, reuniões e até broncas: Alana Arruda, Carolina Silva, Luciana Traesel, Marlise Milhomem, Sarah Dutra, Vitor Augusto, Nágilla Leite, Natalie Pinto. De forma especial, quero agradecer à Aldilene Silva, pela paciência nas minhas horas de estresse, pela companhia nas horas intermináveis de ônibus e pelos momentos de descontrações aos finais de semana.

Ao Instituto Federal do Maranhão pela liberação para realização da pós-graduação e pelo apoio para realização desta tese, em especial a Suelma Feitosa do Campus São Raimundo das Mangabeiras e Maria Verônica Andrade, José Manoel e Ednaldo Bezerra, do Campus Caxias.

A minha mãe, Maria Elisa, pelo apoio incondicional.

Agradeço a família Rocha: Irene, Luzia, Ligia, especialmente Letícia, por todas as vezes que me acolheram e me deram suporte nas vezes que precisei.

Aos meus alunos do Campus São Raimundo das Mangabeiras, Cassiano Ricardo, Candida Ciríaco e Irene Privado pela ajuda nas coletas dos dados etnoveterinários e momentos especiais. Aos meus “meninos” do curso de Zootecnia do IFMA-Campus Caxias, em especial Francisco Rômulo, Liliane Santana, Kerlen da Silva e Waliston Gabriel, pela ajuda nas coletas de dados, pelos momentos de alegria e por me fazerem acreditar na minha

capacidade de orientação e na vocação de professora, nas várias vezes em que duvidei, ainda que precise aprimorar e muito, ambas.

A Vladiana Lima, Joyce Italiano e Erika Fabiana pela amizade especial dedicada a mim mesmo a distancia, com palavras de motivação nos momentos difíceis.

Ao CNPq, CAPES e FAPEMA pelo apoio financeiro.

Por fim, o meu sincero e eterno agradecimento, a todos os animais, que serviram para o experimento.

RESUMO

OLIVEIRA, A. F. **Bioprospecção de produtos vegetais do cerrado maranhense com atividade anti-helmíntica**. 2016. f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia, Universidade Federal do Maranhão (UFMA), São Luís, 2016.

As helmintoses são um dos principais fatores que interferem na produção de pequenos ruminantes, atualmente agravado devido a resistência anti-helmíntica que dificulta o controle dessas parasitoses. Sendo assim, fazem-se necessários estudos sobre novas formas de controle e dentre estas, destacam-se os produtos naturais. A escolha das espécies vegetais com potencial farmacêutico pode ser realizada por diferentes tipos de abordagens, destacando-se etnoveterinária e a etológica. Sendo assim, o presente trabalho teve por objetivos documentar o conhecimento etnoveterinário sobre plantas utilizadas por habitantes de uma comunidade rural no interior do Maranhão, selecionando e validando cientificamente plantas com elevada frequência de relatos de uso como anti-helmínticas, além de serem consumidas voluntariamente por caprinos. Extratos acetônico (EA) e hidroalcólico (EHA) das espécies vegetais *Turnera ulmifolia* L. (folhas e raízes), *Parkia platycephala* Benth. (folhas e sementes) e *Dimorphandra gardneriana* Tul. (folhas e cascas), foram testadas *in vitro* para atividade contra *Haemonchus contortus* através do teste de eclosão de ovos (TEO), utilizando concentrações que variaram de 0,3 a 10 mg/mL, teste de desembainhamento larvar artificial (TDLA) em concentrações de 37,5 µg/mL a 1200 µg/mL e teste de desenvolvimento larvar (TDL). Um segundo conjunto de incubações foi realizado utilizando polivinilpolipirrolidona (PVPP), a fim de observar a influência de polifenóis no possível efeito anti-helmíntico nos TEO e TDLA. Os dados de cada extrato foram usados para calcular a concentração letal média (CL₅₀) para cada teste. Todos os extratos apresentaram resultados significativos em pelo menos um dos testes. O uso de PVPP revelou que os taninos condensados não são os únicos metabólitos secundários dos extratos responsáveis pelos efeitos anti-helmínticos. Os resultados mostram que o uso dos critérios etnoveterinário e etológico se mostram promissores na busca de potenciais substâncias terapêuticas e que os extratos avaliados apresentaram efeito anti-helmíntico, podendo constituir alternativa para o controle de nematoides gastrintestinais de caprinos.

Palavras-chave: Bioprospecção; *Haemonchus contortus*; Produtos naturais; Pequenos ruminantes.

ABSTRACT

OLIVEIRA, A. F. **Bioprospecting plant products of cerrado (Brazilian savanna) in Maranhão, Brazil with anthelmintic activity.** 2016. f. Thesis (Doctoral) - Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia, Universidade Federal do Maranhão (UFMA), São Luís, 2016.

The helminth infections represent a serious problem for the production of small ruminants, currently aggravated by resistance to anthelmintics products, which has stimulated the search for new forms of control, among them natural products. The selection of plant species with pharmaceutical potential can be achieved by different approaches, highlighting ethnoveterinary and ethological. The objective of this study was to document ethnoveterinary knowledge on plants used by inhabitants of a rural community in the state of Maranhão, selecting and scientifically validating plants with high frequency of reports of use as anthelmintics, in addition to being consumed voluntarily by goats. The acetone (Act) and hydroalcoholic (ETH) extracts of plant species *Turnera ulmifolia* L. (leaves and roots), *Parkia platycephala* Benth. (leaves and seeds) and *Dimorphandra gardneriana* Tul. (leaves and bark) were tested *in vitro* against *Haemonchus contortus*, through using Eggs Hatching Assay (EHA), using concentrations ranging from 0.3 to 10 mg/mL, Larval Exsheathment Inhibition Assay (LEIA) at concentrations of 37.5 µg/mL to 1200 µg/mL and Larval Development Assay (LDA). A second set of incubations were made using polyvinylpolypyrrolidone (PVPP) to determine the influence of polyphenols on the anthelmintics effect in EHA and LEIA. Data from each extract were used to calculate median lethal concentration (LC₅₀) for each test. All tested extracts showed activity against at least one life stage of *H. contortus*. The use of PVPP showed that the tannins are not the only extracts of secondary metabolites responsible for the anthelmintic effects. The results show that the use of ethnoveterinary and ethological criteria are promising in the search for potential therapeutic substances and that the extracts evaluated showed an anthelmintic effect and may be an alternative for the control of gastrointestinal nematodes of goats.

Keywords: Bioprospecting; *Haemonchus contortus*; natural products; small ruminants.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

REVISÃO DE LITERATURA

Figura 1: Ciclo de vida dos nematoides gastrointestinais pertencentes à família Trichostrongyloidea.....	19
Figura 2: Espécime de <i>Turnera ulmifolia</i> L.....	37
Figura 3: <i>Parkia platycephala</i> Benth: (A) Espécime adulto; (B) vagens jovens.....	38
Figura 4: <i>Dimorphandra gardeniana</i> Tul.: (A) Espécime adulto; (B) vagens maduras.....	39
Figura 5: <i>Acacia mangium</i> Willd: (A) Espécime adulto; (B) madeira.....	39

CAPÍTULO 1

Figure 1. Brazil's map with cerrado (Brazilian savanna) in gray and focus in São Raimundo das Mangabeiras County in Maranhão State where this study was performed. Adapted from www.bndes.gov.br and CPRM (2011).....	63
--	----

CAPÍTULO 2

Figure 1. Larval exsheathment of <i>Haemonchus contortus</i> in the presence of acetic extracts of A) roots and B) leaves of <i>Turnera ulmifolia</i> , C) seeds and D) leaves of <i>Parkia platycephala</i> , and E) bark and F) leaves of <i>Dimorphandra gardeniana</i> at a concentration of 1200 µg/mL and their combinations with PVPP (polyvinylpyrrolidone).....	97
Figure 2. Larval exsheathment of <i>Haemonchus contortus</i> in the presence of ethanolic extracts of A) roots and B) leaves of <i>Turnera ulmifolia</i> , C) seeds and D) leaves of <i>Parkia platycephala</i> , and E) bark and F) leaves of <i>Dimorphandra gardeniana</i> at a concentration of 1200 µg/mL and their combinations with PVPP (polyvinylpyrrolidone).....	98

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Grupos químicos, princípios ativos e mecanismos de ação dos produtos anti-helmínticos com indicações para pequenos ruminantes comercializados no Brasil.....	23
---	----

CAPÍTULO 1

Table 1. Absolute and relative frequencies of medicinal indications of ethnoveterinary medical plants used by inhabitants of a traditional community in the cerrado (Brazilian savanna) in Maranhão, Brazil.....	67
Table 2. Medicinal use categories and informant consensus factors (ICFs).....	67
Table 3. Supplementary material 1. Plant species used to treat animals by inhabitants of a traditional community in the cerrado (Brazilian savanna) in Maranhão, Brazil, medical indications, plant parts used and method of use.....	77

CAPÍTULO 2

Table 1. The concentrations required to inhibit egg hatching by 50% (EHA), larval exsheathment (LEIA) and larval development (LDA) in <i>Haemonchus contortus</i> (IC ₅₀) with respective 95% confidence intervals (95% CI) for <i>Turnera ulmifolia</i> , <i>Parkia platycephala</i> and <i>Dimorphandra gardneriana</i> extracts.....	95
Table 2. Effect of the addition of PVPP (polyvinylpyrrolidone) on the proportion of morulated eggs (ME), larvae failing eclosion (LFE) and larvae (L) of <i>Haemonchus contortus</i> resulting from incubations with different extracts of <i>Turnera ulmifolia</i> , <i>Parkia partycephala</i> and <i>Dimorphandra gardneriana</i> at a concentration of 5 g/mL (methanol 2%)	96

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µm- micrometro

µL-microlitro

µg-micrograma

AAD-derivados do amino-acetonitrila

AchE- acetilcolinesterase

ACT / EA – Hydroacetic extract/Extrato hidroacetônico

ADF- acid detergent fibre (Fibra detergente ácida)

AH-antihelmíntico/anthelmintic

CI- Confidence Intervals (Intervalo de confiança)

CL₅₀- concentração letal média

CP- crude protein (Proteína bruta)

CT- condensed tannins (Taninos condensados)

DM- dry matter (matéria seca)

EE- Ether extract (Extrato etéreo)

EHA/ TEO- Egg Hatching Assay/ Teste de eclosão de ovos

EHA/ETH- - extrato hidroalcolico/hydroalcoholic extract

FAO- Food and Agriculture Organization of the United Nations

FECRT- Teste De Redução Da Contagem De Ovos Nas Fezes

GABA- Ácido gama-aminobutírico

IBGE-Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IBDV- Vírus Da Doença Da Bursa

ICF- Informant Consensus Factor (Fator de consenso entre informantes)

IC₅₀- inhibition concentration (Concentração Inibitória)

L1- larvas de primeiro estágio

L2- larvas de segundo estágio

L3- larvas de terceiro estágio

LDA/ TDL- Larval Development Assay/ Teste de inibição de desenvolvimento larvar

LEIA/ TDLA- Larval Exsheathment Inhibition Assay/ Teste de desembainhamento larvar artificial

LFE- eggs failing to complete their eclosion

ME- morulated eggs eggs

mg-miligrama

MM- Mineral Matter

NDF- neutral detergent fibre (Fibra detergente neutra)

OMS- Organização Mundial de Saúde

OPG- Ovos por grama de fezes

PBS- tampão fosfato salina

PEG- Polietilenoglicol

PSMs- Plants secondary metabolites (Metabólitos secundários de plantas)

PVPP- Polivinilpolipirrolidona

RH- Relative humidity (Umidade Relativa)

RI- Relative Importance (Importância Relativa)

rpm- rotações por minuto

SIDAN-Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para saúde animal

SGI- Estrongilídeos gastrointestinais;

SR- Estrongilídeos respiratórios

TIAL- Teste de Inibição da alimentação larvar

TMA- teste de motilidade de adultos

TIML- Teste de inibição da migração larvar

TPCL- Teste de perda da cutícula larvar

TT- Targeted Treatment (Tratamentos Alvo)

TST- Targeted Selective Treatment (Tratamento Alvo Seletivo)

Uvis - Use value of the species for a single informant (Valor de uso das species para um informante)

Uvs: Total use value of the species for all informants (Valor de uso de uma espécie para todos os informants)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1. Caprinovinocultura.....	17
2.2. Nematóides gastrointestinais.....	18
2.2.1. Ciclo biológico.....	18
2.2.2. Nematóides de Importância biológica.....	20
2.2.2.1. <i>Haemonchus contortus</i>	21
2.2.2.2. <i>Trichostrongylus columbriformis</i>	21
2.3. Controle de nematóides gastrointestinais e resistência anti-helmíntica.....	22
2.3.1. Anti-helmínticos sintéticos.....	22
2.3.2. Resistência anti-helmíntica.....	23
2.3.3. Controle de nematoides.....	24
2.3.4. Alternativas de controles de nematoides.....	26
2.4. Produtos naturais.....	28
2.5 Critérios para seleção de plantas com atividade anti-helmíntica.....	29
2.6. Validação de plantas com atividade anti-helmíntica.....	31
2.6.1. Testes <i>in vitro</i>	32
2.6.2. Testes <i>in vivo</i>	34
2.6.3. Química de taninos e outros polifenóis.....	35
2.7. Cerrado e espécies vegetais selecionadas.....	36
2.7.1 <i>Turnera ulmifolia</i> L.....	36
2.7.2 <i>Parkia platycephala</i> Benth.....	37
2.7.3 <i>Dimorphandra gardneriana</i> Tul.....	38
2.7.4 <i>Acacia mangium</i> Willd.....	39

3.OBJETIVOS.....	40
3.1. Objetivo Geral.....	40
3.2. Objetivos Específicos.....	40
REFERENCIAS.....	41
4. CAPÍTULO 1: Conhecimento etnoveterinário de plantas medicinais e práticas de uma comunidade rural em uma área de Cerrado no Maranhão, Brasil.....	59
5. CAPÍTULO 2: Atividade anti-helmíntica de extratos de plantas selecionadas utilizando-se critérios etnoveterinário e etológico.....	85
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	107
7. PERSPECTIVAS.....	109
ANEXOS	

1. INTRODUÇÃO

A caprinovinocultura é uma atividade de grande importância econômica em todos os continentes, estando presente em áreas que possuem as mais diversas características climáticas, observando-se uma maior concentração nos países em desenvolvimento. No Brasil, a produção de pequenos ruminantes é uma atividade de importância social, especialmente na região Nordeste, pois gera oportunidades de emprego e renda. Atualmente, a caprinovinocultura se apresenta como uma alternativa para a diversificação da produção e aumento da rentabilidade das propriedades rurais.

Apesar da perspectiva do crescimento comercial dessa atividade, a produção e a produtividade ainda são limitadas por problemas sanitários, nutricionais e de manejo. Entre os fatores que afetam a produtividade e a saúde do rebanho, destacam-se as doenças parasitárias, em especial as causadas pelos nematoides gastrointestinais, que acometem os caprinos e ovinos durante toda vida produtiva, sendo responsáveis por elevadas perdas na produção, devido ao subdesenvolvimento, redução do consumo de alimentos, diminuição da produção de leite e carne, baixa fertilidade dos animais, e em alguns casos alta taxa de mortalidade (LESSA et al., 2004; GENNARI; AMARANTE, 2006; LIMA, et al., 2010). Perdas econômicas incluem ainda os custos monetários para aquisição do produto anti-helmíntico comercial, e da mão-de-obra para a aplicação do medicamento, as quais são rotinas nas propriedades produtoras de pequenos ruminantes. Ademais, o uso intensivo e descontrolado de compostos químicos sintéticos vem promovendo a seleção de cepas resistentes (THOMAZ-SOCCOL et al., 1996; HOSTE; TORRES-ACOSTA, 2011). Em geral, essas infecções parasitárias são de natureza mista, sendo o *Haemonchus contortus* a espécie de parasito mais prevalente e mais patogênico (AMARANTE et al. 2009).

Devido à ineficiência dos produtos sintéticos, ao alto custo dos medicamentos alopáticos, associado à busca da população por tratamentos menos agressivos aos animais e ao meio ambiente (RIBEIRO et al., 2005), torna-se cada vez mais imperativo o desenvolvimento de novos métodos de controle parasitário e as pesquisas têm procurado por substâncias, que tenham a capacidade de diminuir o número de parasitos a um nível administrável ou modificar seus processos biológicos e ciclo de vida, em vez de eliminá-los completamente (KLONGSIRIWET et al., 2015).

Nessa busca por terapias alternativas o interesse pelo estudo de plantas medicinais e suas moléculas bioativas vem crescendo nos últimos anos, principalmente no que se refere à sua atividade farmacêutica e composição química. E o conhecimento veterinário tradicional voltou a ser valorizado em diversas partes do mundo, seja porque é reconhecido como uma

importante fonte de descoberta de substâncias para a medicina alopática, seja pelo fato de constituir uma alternativa mais viável e acessível para comunidades rurais dispersas e pobres, ou ainda pela questão da importância da documentação do conhecimento tradicional antes que o mesmo seja erodido pela tendência de globalização contemporânea (GITHIORI et al., 2005). Além disso, a utilização de produtos naturais pode representar uma alternativa ecologicamente viável, contribuindo inclusive para o aumento da lucratividade pecuária, uma vez que reduz o uso de anti-helmínticos convencionais (VIEIRA; CAVALCANTE, 1999)

Atualmente, inúmeras evidências têm dado impulso para o estudo do comportamento da auto-medicação animal (estudo etológico), que está relacionado à utilização de compostos secundários e substâncias não-nutricionais no combate às doenças. Baseando-se na observação do consumo de plantas por animais, busca-se entender como esta prática pode ser aplicada no tratamento de doenças de animais rurais/domésticos, ou mesmo para consumo por humanos. (HUFFMAN, 2003).

Diante do exposto, o presente trabalho tem como objetivo estudo de bioprospecção da atividade anti-helmíntica de espécies vegetais do cerrado maranhense. A tese foi organizada na forma de capítulos apresentando as principais produções bibliográficas elaboradas a partir do tema proposto. O capítulo 1 aborda o estudo etnoveterinário realizado no cerrado maranhense no município de São Raimundo das Mangabeiras, Maranhão. O capítulo 2 apresenta os resultados dos testes *in vitro* avaliando a atividade anti-helmíntica contra *Haemonchus contortus* de plantas selecionadas por diferentes métodos, incluindo o estudo etnoveterinário do capítulo 1

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Caprinovinocultura

Segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), no ano de 2014, o rebanho nacional de caprinos alcançou 8.851.879 cabeças, sendo 8.109.672 cabeças na Região Nordeste (91,6%), enquanto o rebanho ovino registrou o número de 17.614.454 cabeças no País, das quais 10.126.799 estão no Nordeste (57,5%) e 5.166.225 na Região Sul (29,3%). O país concentra hoje o 22º rebanho mundial de caprinos e o 18º maior rebanho de ovinos no planeta. (FAO, 2015; IBGE, 2015). É uma atividade de extrema importância econômica e social, principalmente para a população do sertão nordestino, onde é exercida tipicamente por pequenos produtores em que a obtenção de proteína de origem animal e fonte de renda derivam da criação de animais, de raças nativas e sem padrão racial definido em sua maioria e tradicionalmente explorada com tecnologia menos especializada, empregando mão-de-obra familiar e utilizando produtos regionais e de baixo custo (WANDER et al., 2003; IBGE, 2015).

Apesar de a caprinovinocultura ser uma atividade exercida principalmente por pequenos produtores, possui um enorme potencial econômico, devido a rusticidade desses animais, a facilidade de adaptação as mais diferentes condições climáticas, aliado ao fato de que podem ser criados em pequenas, médias e grandes propriedades; maior valorização dos produtos comparado com os originários de outras espécies animais; maior produtividade; e o mercado que está em ampla expansão em todas as regiões do Brasil (NOGUEIRA-FILHO; KASPRZYKOWSKI, 2006; SALEM, 2010). Os principais produtos originários da criação de caprinos e ovinos, além da própria comercialização de matrizes e reprodutores, são: carne, leite, pele e seus derivados. A carne destaca-se pela sua qualidade nutritiva devido aos baixos teores de colesterol e gorduras, sendo inclusive mais magra que a carne de frango, possui sabor característico e maciez, apta a atender um consumidor que se preocupa cada vez mais com sua saúde e bem-estar (GUIMARÃES; HOLANDA, 2002). As peles de caprinos, e em especial as de ovinos, apresentam boa cotação no mercado externo, em virtude de caracterizarem-se pela grande resistência, boa flexibilidade e pela beleza podendo ser utilizadas para vestuário, calçados, luvas etc. (BARROS; SIMPLÍCIO, 2001). O leite de cabra possui 20% mais cálcio, menor teor de açúcar, 30% menos colesterol e teores semelhantes de proteínas e vitaminas quando comparados ao leite de bovinos (ALVES, 2002). Já o leite ovino apresenta os maiores teores de proteína, lipídios, minerais e vitaminas essenciais para a saúde humana. Em geral, o consumo de leite de ovelha in natura é muito baixo, mas é muito

utilizado para produção de queijos finos e em alguns países, parte do leite é transformado em iogurte ou queijos frescos (HAENLEIN; WENDORFF, 2006). Além destes, tem-se ainda as vísceras comestíveis, muito apreciadas na região semi-árida do Nordeste brasileiro, na forma de um prato típico, “a buchada”, que além de ser usada como uma fonte alimentar nutritiva e de baixo custo para o homem, pode também aumentar a rentabilidade do produtor (SIMPLÍCIO, 2001).

A cadeia produtiva da caprinovinocultura no Brasil vem evoluindo da condição de subsistência para bases empresariais, embora ainda com baixa produtividade. Uma das razões para a baixa produtividade está no regime de manejo da exploração, predominantemente extensiva e rudimentar, com alta dependência da vegetação nativa, assistência técnica deficitária, baixo nível de organização e de gestão da unidade produtiva e, sobretudo, falta de controle sanitário efetivo (PINHEIRO et al., 2000; SOTOMAIOR 2007; ARAÚJO-NETO et al., 2010). Dentre os problemas sanitários, destacam-se os nematóides gastrintestinais, sendo *Haemonchus contortus* e *Trichostrongylus colubriformis* as principais espécies apontadas como as responsáveis pelos prejuízos econômicos (SILVA, 2014).

2.2. Nematóides gastrintestinais

Acredita-se que os problemas com parasitas surgiram após a domesticação. Antes da domesticação, os animais apresentavam hábitos migratórios, que de certa forma os mantinham livres de altas infecções por parasitas gastrintestinais, pois, por estarem dispersos, tinham diminuídas as chances de re-infecção e assim, o equilíbrio entre parasita e hospedeiro permitia a tolerância dos animais a essa enfermidade. Com a domesticação e consequente aumento no número de animais por área, alterou este equilíbrio em favor dos parasitas, sendo os helmintos gastrintestinais os mais numerosos, amplamente distribuídos e prejudiciais aos animais (CHIEJINA, 2001; SOUTELLO et al., 2002; BIZIMENYERA et al., 2006).

2.2.1. Ciclo biológico

As helmintoses são causadas por parasitos pertencentes as classes Nematoda, Cestoda e Trematoda, destacando-se em ruminantes os pertencentes às Famílias Trichostrongylidae que inclui os gêneros *Haemonchus*, *Trichostrongylus*, *Cooperia*, *Ostertagia* (sinônimo *Teladorsagia*) e *Nematodirus*; e representantes das Famílias Dictyocaulidae, Cyathostomidae e Ancylostomatidae, com os gêneros *Dictyocaulus*, *Oesophagostomum* e *Bunostomum*, respectivamente. (VIEIRA, 2005; COSTA et al, 2011).

O ciclo biológico da Família Trichostrongylidae é definido como monoxeno (ou seja, é necessário apenas um hospedeiro para completar seu desenvolvimento) (TAYLOR et al, 2009). Ele consiste em duas fases: a fase livre no ambiente externo (exógena) e uma fase parasitária no hospedeiro (ou fase endógena) (Figura 1) (VEGLIA, 1915; JACQUIET et al., 1998; TAYLOR et al, 2009). A fase de vida livre inicia-se quando as fêmeas adultas liberam ovos juntamente com as fezes do hospedeiro, que, por estímulos externos, embrionam e eclodem, liberando as larvas de primeiro estágio (L1).

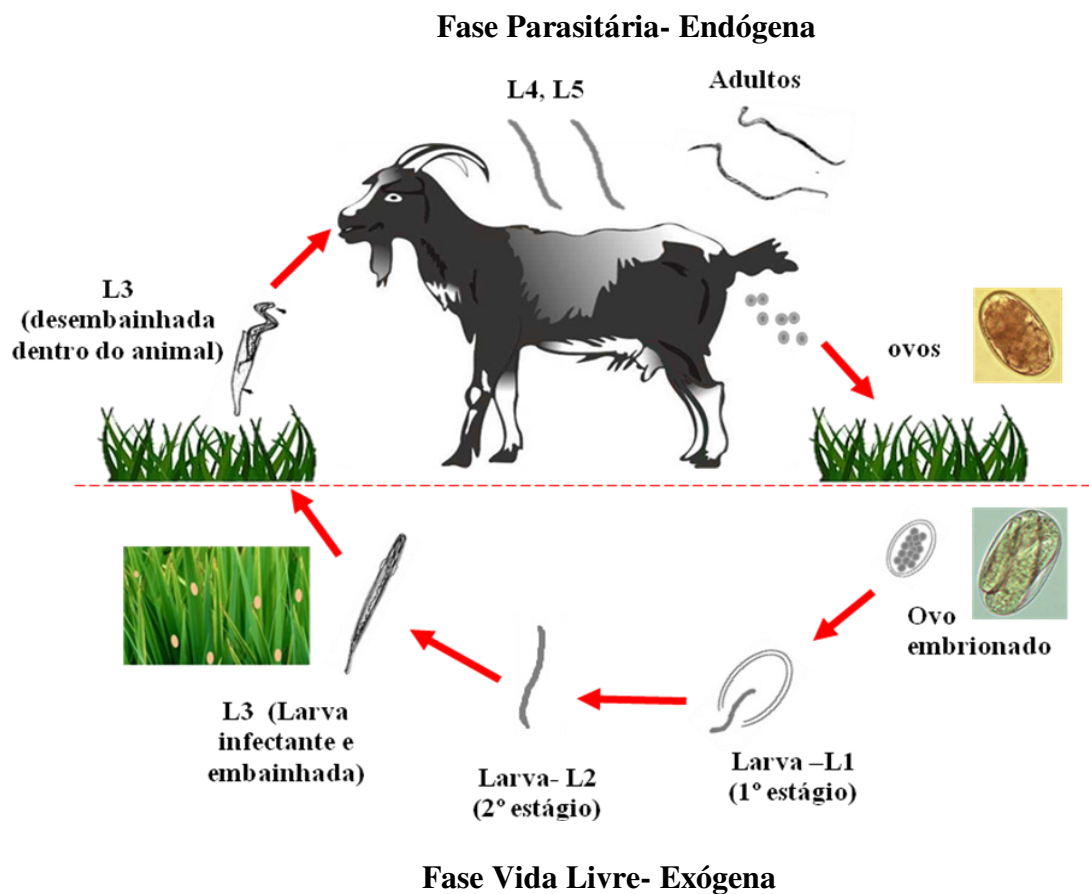


Figura 1. Ciclo de vida dos nematoides gastrointestinais pertencentes à Família Trichostrongylidae.

As larvas de primeiro estágio (L1) que são rabtidiformes, passam pela primeira muda, originando as larvas de segundo estágio (L2), também rabtidiformes. As larvas de ambos os estádios alimentam-se de bactérias e permanecem no bolo fecal do hospedeiro. A larva de 2º estágio evolui para a larva de 3º estágio (L3 ou larva infectante), caracterizadas pela presença de duas cutículas: uma nova sintetizada, que fica aderida ao corpo e a cutícula da fase anterior (L2), que se mantém destacada da nova pele, envolvendo externamente a larva como uma

bainha protetora, garantindo resistência à mudanças ambientais, principalmente, calor, frio e dessecação. O esôfago passa do formato rabtiforme para filariforme e a L3 não se alimenta no ambiente externo (VEGLIA, 1915; TAYLOR et al, 2009).

Apesar dos estádios larvais L1 e L2 serem muito resistentes no ambiente, a fase de vida livre do nematóide é fortemente influenciada pelas condições ambientais como temperatura e umidade que, se forem extremas, podem provocar o ressecamento de L1 e L2 ou inviabilizar a migração de L3. Assim, as taxas de infecção dos animais e de contaminação do ambiente são influenciadas pelos efeitos diretos do clima sobre o desenvolvimento e a sobrevivência dos estágios de vida livre e do deslocamento das larvas infectantes na pastagem. A faixa entre 18 °C e 26 °C é a ideal para o desenvolvimento máximo de larvas no menor tempo possível para a maioria dos tricostrongilídeos (BOWMAN et al., 2010), além de acelerar sua migração das fezes para o pasto (SANTOS et al., 2012).

A transição entre a fase de vida livre e da vida parasitária é marcada pela ingestão da L3 pelos animais juntamente com a forragem. No aparelho digestivo, as L3s são liberadas da sua bainha, através do processo de desembainhamento (HERTZBERG et al., 2002; DE ROSA et al, 2005), fenômeno ativo que ocorre em resposta a vários estímulos, tais como a exposição a um ambiente rico em dióxido de carbono, o pH (próximo a neutralidade para *H. contortus* e ácido para *T. colubriformis*) e a mudança na temperatura após a ingestão (ROGERS; SOMMERVILLE, 1968). Estes estímulos induzem a secreção pelas células glandulares das L3 e excreção pelos poros excretores de um fluido rico em proteases e acetilcolinesterase que promovem a digestão da bainha e liberação da larva (MALLET; LESAGE, 1987). O processo de desembainhamento ocorre no órgão digestivo anterior aos que são habitados pelos nematóides adultos, portanto, as espécies abomasais se desembainham no rúmen (*Haemonchus* spp.), e no caso das espécies intestinais (*Trichostrongylus* spp., *Cooperia* spp.), o processo ocorre no abomaso (RAHMAN; COLLINS, 1990).

As L3 desembainhadas, em seguida, penetram na mucosa do órgão alvo, onde passam por mais duas mudas, atingindo a maturidade sexual. Após a fecundação, as fêmeas põem ovos que são excretados nas fezes do hospedeiro (ZAJAQ, 2006; TAYLOR et al., 2009).

2.2.2. Nematóides de Importância Econômica

Dentre os nematóides de maior patogenicidade e que causam maior impacto econômico destaca-se o *Haemonchus contortus* como parasito de maior prevalência e patogenicidade em todo o território nacional, sendo encontrado em 75% a 100% dos animais (MORTENSEN et al., 2003), seguido pela espécie *Trichostrongylus colubriformis*. Contudo, vale salientar que

os rebanhos brasileiros, em geral, são acometidos por infecções mistas (AMARANTE, 2004; SANTOS et al., 2004; VIEIRA, 2005), e que os diferentes gêneros de tricostrongilídeos simultaneamente infectam um mesmo animal, sendo as populações de parasitos influenciadas pelo manejo sanitário (COOP; KYRIAZAKIS, 1999; MOLENTO, 2000; KAHN, 2003; BUZZULINI et al., 2007) e pela idade, raça, imunidade, estado fisiológico, e nutricional do hospedeiro (COOP; HOLMES, 1996).

A ação expoliativa dos parasitos é verificada pelo baixo aproveitamento nutricional, redução da conversão alimentar, reduzido ganho ponderal, déficit na produção de carne, lã e leite (VLASSOFF et al., 2001) e, em casos extremos, até a morte dos hospedeiros mais susceptíveis (COLDITZ; LE JAMBRE, 2008; RAMALHO et al., 2008).

2.2.2.1. *Haemonchus contortus*

Haemonchus é considerado o parasito de maior importância econômica para os rebanhos de pequenos ruminantes em regiões tropicais e subtropicais, devido à sua ampla distribuição e alta intensidade (CHAGAS et al., 2007), sendo reconhecido pela patogenicidade, que resulta em alta morbidade (BUZZULINI et al., 2007) e mortalidade de até 40% dos animais não tratados (RAMOS et al., 2004). Embora este parasito esteja presente durante o ano todo, sua predominância em relação aos demais gêneros evidencia-se nos meses de verão e outono (MORAES, 2002). A fase de vida parasitária de *H. contortus* é caracterizada pelo hematofagismo, que acarreta anemia hipocrômica microcítica devido à deficiência de ferro e microhemorragias decorrente das lesões à mucosa (LORIA et al., 2009). A média da perda sanguínea por parasito/dia é estimada em 0,05 mL (LE-JAMBRE, 1995). Os animais podem apresentar ainda outras alterações clínicas tais como pêlos arrepiados, emagrecimento, fezes escuras, fraqueza e edema submandibular causados devido a danos às funções gástricas e alterações no conteúdo de proteínas totais (hipoproteinemia) (FOX, 1993).

2.2.2.2 *Trichostrongylus colubriformis*

A espécie *T. colubriformis*, habitante do intestino delgado de pequenos ruminantes, causa gastroenterite devido seu hábito quimóforo, desgastando as vilosidades intestinais, com erosão da mucosa, prejudicando a capacidade do intestino efetuar trocas de líquidos e nutrientes. Em infecções leves, os sintomas são inapetência, crescimento retardado e lotes com baixos índices produtivos; já em infecções mais severas pode ocorrer perda de peso acentuada e diarreia (URQUHART et al., 1998; LOVE; HUTCHINSON, 2003; BIZIMENYERA et al., 2006).

2.3. Controle dos nematoides e resistência anti-helmíntica

2.3.1. Anti-helmínticos sintéticos

A importância econômica e sanitária dos nematoides gastrointestinais levou a busca de mecanismos para a eliminação e/ou controle dessas infecções para uma pecuária produtiva e os anti-helmínticos sintéticos há mais de 50 anos têm respondido como soluções ideais por causa de sua facilidade de uso e acesso. A venda mundial de produtos veterinários é da ordem 23,9 bilhões de dólares anuais, sendo 27,0% representados por parasiticidas. No Brasil, o comércio desses produtos para a produção de ruminantes alcança 60,0%, o que equivale a 550 milhões de dólares anuais (SIDAN, 2016).

Sete grupos químicos de anti-helmínticos são atualmente comercializados no mundo: benzimidazóis (Albendazol), imidatazóis (Levamisol), lactonas macrocíclicas (Ivermectina; Moxidectina), organofosforados (Triclorfon), salicilanilidas (Closantel), substitutos nitrofenólicos (Disofenol), derivados do amino-acetonitrila - AAD (monepantel) e spiroindoles (derquantel) que possuem diferentes modos de ação sobre os nematoides (COLES et. al, 2006; STEAR et al., 2007; KAMINSKY et al., 2008, 2009; GEORGE et al., 2012) (Tabela 1).

Durante muitos anos, os anti-helmínticos sintéticos provaram ser eficazes, porém a utilização de forma inadequada, pelo uso intensivo, com super e/ou subdosagens, diagnósticos equivocados e ausência de rotatividade entre as bases farmacológicas, principalmente devido o pouco conhecimento por parte dos produtores e trabalhadores rurais sobre a epidemiologia das helmintoses, bem como as interações parasita/hospedeiro (SOUZA et al., 2008), aliada a pressão social por parte dos consumidores, quanto à presença de resíduos destes no meio ambiente ou em produtos de origem animal para consumo, sinalizam a necessidade da utilização de outros métodos de controle menos dependentes desse fármacos. Contudo, o desenvolvimento global de resistência à anti-helmínticos sintéticos em populações de nematóides ainda é o fenômeno mais preocupante e limitante no emprego dos anti-helmínticos sintéticos, especialmente em pequenos ruminantes (HART, 2011; JACKSON et al., 2012).

Tabela 1. Grupos químicos, princípios ativos e mecanismos de ação dos produtos anti-helmínticos com indicações para pequenos ruminantes comercializados no Brasil.

Grupos químicos	Princípios ativos	Espectro de atividade	Alvos suspeitos
Imidatazóis	Levamisol	SGI/SR	Receptores nicotínicos de acetilcolina
	Tetramisol		
Benzimidazóis	Albendazol	SGI	β -tubulina
	Fembendazol	SGI/SR	
Lactonas macrocíclicas	Avermectinas:	SGI/SR, Insetos, ácaros	Canais iônicos Receptores GABA
	Doramectina		
	Ivermectina		
	Milbemicinas: Moxidectina		
Salicilanilidas	Closantel	SGI/SR, Insetos	Fosforilação oxidativa
Substitutos nitrofenólicos	Disofenol	SGI	Fosforilação oxidativa
	Nitroxinil		
Organosfosforados	Triclorfon	SGI/SR, Insetos, Ácaros	Acetilcolinesterase (AChE)
Derivados de amino-acetonitrila (AAD)	Monepantel	SGI/SR	Agonista nicotínico
Spirindole	Derquantel	SGI	Receptores nicotínicos de acetilcolina

SGI= Estrongilídeos gastrointestinais; SR= Estrongilídeos respiratórios

Fonte: MOLENTO (2004); KAMINSKY et al. (2008, 2009); GEORGE et al. (2012)

2.3.2. Resistência anti-helmíntica

A resistência pode ser definida como a capacidade de uma população de parasitos sobreviver após a aplicação de doses de anti-helmínticos que são letais à populações susceptíveis (TORRES-ACOSTA; HOSTE, 2008; JACKSON et al., 2012), sendo a baixa

eficácia dos tratamentos com anti-helmínticos um sinal da seleção de cepas resistentes. Os nematódeos possuem características genéticas que favorecem o desenvolvimento da resistência aos anti-helmínticos, dentre as quais, podem ser citadas rápidas taxas na evolução da sequência de nucleotídeos (e, consequentemente, naqueles correspondentes aos receptores das drogas) e grande população efetiva, o que permite elevada diversidade genética (BLOUIN et al., 1995). Dessa forma, além de apresentarem potencial genético para responder contra os fármacos químicos, possuem meios de assegurar a disseminação dos genes da resistência (KAPLAN, 2004), portanto o fenômeno de resistência a anti-helmínticos é evolutivo e hereditário (WOLSTENHOLME et al., 2004).

Como resultado de tratamentos repetidos, os nematóides portadores de alelos de "resistência", incluindo homozigotos sobrevivem e, por conseguinte, a proporção de alelos de "resistência" aumenta na população. Os nematoides resistentes ao se reproduzirem disseminam tais alelos (WALLER, 2006a, 2006b). Vários fatores intrínsecos aos nematóides ou ligados à atividade humana (extrínseca), pode acelerar o surgimento e a propagação da resistência dentro de uma população, fazendo com que em pouco tempo o tratamento deixe de surtir efeito e a infecção continue persistindo no rebanho.

Os relatos de resistência anti-helmíntica em nematoides de pequenos ruminantes para os três grupos de drogas mais comumente utilizados, benzimidazóis, imidazotiazóis (levamisole) e das lactonas macrocíclicas, têm crescido rapidamente em diferentes regiões do mundo, incluindo América do Sul (MOLENTO et al., 2011; TORRES-ACOSTA et al., 2012), África (VAN WYK et al., 1999), Oceania (McKENNA, 2010; LOVE;COLES, 2002) e Europa (PAPADOPOULOS et al., 2012), representando uma séria ameaça à produção animal. Já foram relatados também casos de resistência a novas drogas como monepantel e derquantel, este em combinação com a abamectina.(SAGER et al., 2012; SCOTT et al., 2013). No Brasil, o aumento de relatos de resistência múltipla a drogas (RMD), em vários locais, como as regiões Sul (CEZAR et al., 2010), Sudeste (VERÍSSIMO et al., 2012) e Centro-Oeste (SCZESNY-MORAES et al., 2010), evidencia a gravidade do problema.

2.3.3 Controle de nematódeos

O tratamento anti-helmíntico ideal deve ser polivalente (contra diferentes espécies, mas também várias fases parasitárias), não-tóxico e rapidamente eliminado pelo hospedeiro, de administração fácil e um custo razoável (QUIJADA, 2015) e para o controle dos nematoides gastrointestinais, alguns pontos devem ser observados: a) no hospedeiro, a melhora da

resistência, a resiliência e a redução da carga parasitária e b) no ambiente, a redução da contaminação das pastagens por larvas infectantes (TORRES-ACOSTA; HOSTE, 2008).

Para preservar a eficácia dos tratamentos anti-helmínticos e retardar o aparecimento e propagação da resistência em nematoides, tornou-se necessário o uso destas moléculas de uma maneira muito mais fundamentada, a partir da compreensão dos fatores que favorecem o surgimento da resistência aos anti-helmínticos (KOTZE et al., 2014; LEATHWICK; BESIER, 2014). Assim, a prevenção da resistência se fundamenta em soluções tendo por base os erros na aplicação dos tratamentos identificados na criação de pressões de seleção (tais como tratamentos sistemáticos repetidos, ou aplicados a todos os animais de um rebanho). Assim, tem-se desenvolvido novas propostas de tratamentos anti-helmínticos dentre as quais podem ser citadas os tratamentos alvo (Targeted Treatment - TT) e tratamento seletivo (Targeted Selective Treatment - TST) (KENYON; JACKSON, 2012).

O tratamento alvo (tático) pode ser definido como aquele em que o anti-helmíntico é administrado a todo o rebanho em momentos identificados como de maior infecção, considerando-se a existência de população de parasitos em *refugia* (proporção da população de nematóides que não foram expostos ao tratamento anti-helmíntico podendo completar seu ciclo de vida, preservando os genes de susceptibilidade aos anti-helmínticos nas populações de nematóides, e a difusão dos alelos suscetíveis para as próximas gerações de parasitos) (VAN WYK, 2001; KENYON et al., 2009; GABA et al., 2010). Esse tipo de abordagem terapêutica serve para reduzir o número de tratamentos anti-helmínticos dado a um rebanho e, assim, minimizar a contaminação da pastagem com genótipos resistentes (KENYON et al., 2009).

Já o tratamento seletivo, consiste na identificação dos animais mais infectados que representam um grande risco de contaminação das pastagens e, portanto, um risco para o rebanho. Neste caso, o objetivo é administrar tratamentos apenas a estes animais. Entre as propostas de métodos de seleção para tratamento dos animais destacam-se: métodos clínicos, como o método FAMACHA, ou a presença de sinais clínicos (condição da pelagem, edema submandibular, diarreia, e descarga nasal) (TORRES-ACOSTA et al., 2012) e os sub-clínicos como a contagem de ovos por grama de fezes (OPG) (VAN WYK; BATH, 2002; VAN WYK et al., 2006), desempenho produtivo (ganho de peso ou escore corporal) (CHARLIER et al., 2014; KENYON; JACKSON, 2012) ou com base na produção de leite em cabras leiteiras (HOSTE et al, 2002a, 2002b).

2.3.4. Alternativas de controles de nematóides

Devido à crescente limitação da eficácia dos AHs sintéticos, muitos estudos têm buscado desenvolver métodos alternativos para controlar os nematoides gastrointestinais. Estes métodos são baseados em três princípios: 1) diminuir a fonte de contaminação para os hospedeiros, 2) aumentar a resistência do hospedeiro ou 3) eliminar o nematóide GI no hospedeiro (HOSTE; TORRES-ACOSTA, 2011).

O primeiro princípio baseia-se no fato de parte do ciclo biológico dos nematoides ocorrer nas pastagens, e utiliza técnicas que consistem no manejo do rebanho nas pastagens, limitando o contato entre os hospedeiros susceptíveis e os estágios infectantes do parasita (HOSTE; TORRES-ACOSTA, 2011). O manejo correto depende do conhecimento de fatores epidemiológicos dependentes do clima, das espécies de parasitas presentes e do tipo e do manejo das pastagens (EYSKER et al., 2005). O pastejo rotacionado é uma das estratégias de manejo que pode interromper o ciclo dos parasitas, porém é necessário que o tempo de permanência do rebanho nos piquetes seja inferior ao de desenvolvimento das larvas infectantes e o intervalo de descanso seja suficiente para inviabilizá-las ou destruí-las (CÉZAR et al., 2008). Portanto, em um pastejo rotativo, para evitar as reinfecções os animais não deveriam permanecer mais do que quatro dias na mesma pastagem e o período de rotação em que as pastagens devem ficar sem animais é determinado pela taxa de sobrevivência da L3, que depende das condições climáticas.

Nas áreas subtropicais e tropicais L3 se mantém no ambiente por um a três meses. Em climas temperados, estas podem sobreviver de seis a 18 meses (TORRES-ACOSTA; HOSTE, 2008). No Brasil, as larvas de *H. contortus*, por exemplo, sobrevivem na fase de L3 aproximadamente 93 dias a 12 °C e apenas 9 dias a 28 °C (O'CONNOR et al., 2006). STARKE et al. (1992), verificaram no Mato Grosso do Sul, que as massas fecais de búfalos depositadas na pastagens, permaneceram como reservatório de larvas infectantes por até sete semanas na estação chuvosa e por até 18 semanas durante a estação seca. Souza et al. (2000) verificaram a sobrevivência das larvas entre 42 a 56 dias na primavera, 70 a 84 dias no verão, 112 a 126 dias no outono e de 98 a 112 dias no inverno, em campos nativos do planalto catarinense. Rocha et al. (2008) recuperaram L3 em pastagens cultivadas após 112 dias no verão, na região de Botucatu, estado de São Paulo.

Pode-se utilizar ainda a alternância de categorias e/ou de espécies animais no pastejo. Animais adultos tendem a apresentar melhor imunidade às verminoses que os jovens, eliminando fezes em grande volume, mas com OPG baixo, o que diminui a quantidade de larvas nas pastagens (COLES, 2002). Já o consórcio de animais de diferentes espécies pode

auxiliar no controle, pois quando as larvas infectantes são ingeridas por um hospedeiro não preferencial, o nematódeo tem o estabelecimento e a reprodução dificultados ou interrompidos (AMARANTE, 2004).

A alternância de diferentes tipos de forrageiras na pastagem pode favorecer o controle de parasitas gastrointestinais, pois algumas espécies mais rasteiras mantêm um microambiente úmido favorável para o deslocamento das larvas L3 até a altura em que serão ingeridas, e as pastagens eretas e altas, fazem com que os animais pastejem em altura acima da parte da planta em que as L3 se concentram (HART, 2011). Riet-Côrrea et al. (2013) cita ainda que o cultivo de espécies arbóreas como *Leucaena leucocephala* (leucena), *Gliricidia sepium* (gliricidia), *Auxemma oncocalyx* (pau-branco) e *Manihot* spp. (maniçoba) favorecem o hábito de ramoneio e evitam a ingestão de L3.

Algumas práticas culturais, como arar na reforma das pastagens (HOSTE et al., 2004) ou queima controlada de pastagens (corte e queima) (HOUNZANGBE-ADOTE et al, 2005) ajudam a descontaminar pastagens.

A seleção de animais com uma resposta imune mais eficaz contra parasitas aumenta a população de animais resistentes ou resilientes (HOSTE et al., 2001). A variabilidade genética de resistência aos nematóides no hospedeiro tem sido relatada entre raças ou entre indivíduos da uma mesma raça (BISHOP; MORRIS, 2007; ANDRONICUS et al, 2010). Podem ser utilizadas raças mais resistentes à infecção por nematóides; no entanto, é essencial que se selecionem os indivíduos mais resistentes dentro de uma mesma raça, pois têm-se uma diminuição progressiva na contaminação das pastagens, após algumas gerações (HOSTE;TORRES-ACOSTA, 2011).

Contudo, a seleção de animais resistentes podem apresentar alguns aspectos negativos, como o risco de um aumento da susceptibilidade a outros agentes patogênicos (GRUNER et al., 1998) ou afetar a produtividade (GRAY, 1997). Além disso, esses programas são desenvolvidos em longo prazo e deve levar em conta as condições agrícolas locais e a disponibilidade dessas raças para cumprir os objetivos de melhoramento (WINDON, 1996; POMROY, 2006).

A vacinação também vem sendo estudada como método para aumentar a resistência dos animais aos nematoides gastrointestinais, mas apesar dos resultados promissores, a estratégia de vacinação contra nematóides gastrointestinais ainda enfrenta várias limitações. Hoje parece que as possibilidades de uma vacina eficaz contra os estrongilídeos permanecem limitadas a uma única espécie, o *H. contortus* (MOLENTO et al., 2011; BASSETTO et al, 2014a, 2014b).

Outra abordagem viável e promissora é a utilização de plantas bioativas como anti-helmínticos para, pelo menos parcialmente substituir o uso de drogas químicas (ROCHFORD et al., 2008). Essas plantas podem ser utilizadas na alimentação na forma de nutracêuticos ou seus metabólitos secundários podem ser usados como fitoterápicos (HOSTE et al., 2015).

2.4. Produtos Naturais

Desde a antiguidade, as plantas são utilizadas pelo homem que aprendeu com os animais, a distinguir as plantas comestíveis daquelas que podiam ajudá-lo a sanar suas enfermidades (BENDAZZOLI, 2002; YWATA et al., 2005). Neste sentido, a origem do conhecimento do homem sobre as propriedades medicinais das plantas confunde-se com sua própria história (COWAN, 1999; CALIXTO, 2000; NOVAIS et al., 2003).

Secularmente conhecido e aplicado nas diferentes culturas em todo mundo o uso de plantas sofreu profundas alterações, a partir do século XX, diante da consolidação do processo de industrialização e o aumento na produção de compostos terapêuticos sintéticos mais puros, ativos e que se acreditava com menos efeitos colaterais, aliados ainda ao difícil controle de qualidade dos extratos vegetais utilizados, fazendo com que ocorresse uma preferência mundial pelos medicamentos industrializados (TOLEDO, 2002; FERNANDES, 2004).

Atualmente, momentos de grandes transformações e mudanças de paradigmas vêm ocorrendo e as novas tendências globais de uma preocupação com a biodiversidade e as idéias de desenvolvimento sustentável, aliados à ineficiência de alguns produtos sintéticos, ao alto custo dos medicamentos alopáticos e à busca da população por tratamentos menos agressivos ao organismo e meio ambiente, trouxeram novos ares ao estudo das plantas brasileiras. Novas linhas de pesquisas foram estabelecidas em universidades brasileiras, algumas delas buscando bases sólidas para a validação do uso de plantas (LORENZI; MATOS, 2002; RIBEIRO et al., 2005).

As plantas são muito utilizadas para fins terapêuticos principalmente por populações carentes que não têm acesso a medicina convencional que valoriza a utilização de produtos sintéticos. A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que 80% da população dos países em desenvolvimento utilizam práticas tradicionais na atenção primária a saúde, e desse total, 85% usa ervas ou suas preparações. No Brasil, o Ministério da Saúde já estabeleceu as diretrizes nacionais para utilização da fitoterapia no Sistema Único de Saúde (BRASIL, 2001). Os chamados fitoterápicos são preparações farmacêuticas (extratos, tinturas, pomadas

ou cápsulas) de ervas medicinais, obtidas a partir de uma ou mais plantas, com finalidade profilática, curativa ou paliativa (CALIXTO, 2000; BRASIL, 2009).

As plantas com fins medicinais são ainda muito usadas pelos criadores, como tratamento alternativo ou complementar na veterinária, empregando-se tanto vegetais frescos, extratos vegetais e produtos naturais (SIMONI, 2011). A terapia com plantas se reveste de especial importância para os agricultores familiares, de subsistência e para comunidades isoladas, devido a fatores como incremento dos custos com serviços veterinários, dificuldade em adquirir fármacos sintéticos e a crescente demanda por alimentos orgânicos (CÁRCERES et al., 2004; DOMINGO, 2005). Portanto, o uso de produtos naturais é uma alternativa para o controle das nematodeoses gastrintestinais (ATHANASIADOU et al., 2007), pois pode reduzir os custos dos tratamentos e prolongar a vida útil dos produtos sintéticos disponíveis no mercado (VIEIRA; CAVALCANTE, 1991; KRYCHAK-FURTADO, 2006). Além disso, a utilização de plantas traz benefícios ao meio ambiente, pois são biodegradáveis e se apresentam como suprimento auto-sustentável (HAMMOND et al., 1997).

2.5 Critérios para seleção de plantas com atividade anti-helmíntica

A seleção de uma planta para pesquisa é um ponto fundamental para o seu sucesso e dentre as diversas formas de abordagem que podem ser empregadas na seleção de espécies vegetais para estudos farmacológicos. Baseado em Elisabetsky e Moraes (1988), Santos e Elisabetsky (1999), Krief et al. (2005), Albuquerque e Hanazaki (2006) destacam-se basicamente quatro tipos de investigações.

A abordagem randômica compreende a coleta de plantas medicinais para triagens fitoquímicas e farmacológicas, sem considerar estudos etnobotânicos, afinidades taxonômicas ou outras qualidades intrínsecas das plantas na seleção de plantas, considerando-se uma investigação aleatória. Há muitas críticas e visões equivocadas sobre essa abordagem, devido a aleatoriedade, o que não implica em ausência de critérios.. Possibilita a descoberta de uma infinidade de novas substâncias químicas, úteis ou não na terapêutica, mas é necessário um longo período de estudo.

A abordagem quimiotóxica, também conhecida como abordagem filogenética, consiste na seleção de espécies de uma família ou gênero para as quais se tenha algum conhecimento fitoquímico de pelo menos uma espécie do grupo, favorecendo a obtenção de substâncias químicas conhecidas a partir de novas fontes. Um exemplo é o caso das espécies do gênero *Hypericum*. A espécie *H. perforatum* cujo um dos seus principais constituintes químicos, a hipericina, possui propriedades antidepressivas. Na espécie *H. barbatum* Jacq. encontrou-se

conteúdo de hipericina 3,9 vezes maior que em *H. perforatum* (SMELCEROVIC; SPITELLER, 2006). E a espécie brasileira *H. caprifoliatum* Cham. & Schltdl. também mostrou atividade antidepressiva (DAUDT et al., 2000).

A abordagem etnodirigida fundamenta-se na seleção de espécies de acordo com a indicação de grupos populacionais de diferentes culturas, em determinados contextos de uso, enfatizando a busca pelo conhecimento construído localmente acerca de seus recursos naturais e a aplicabilidade desses recursos em seus sistemas de saúde e doença.

Este é um dos caminhos mais utilizados atualmente por duas razões básicas: o tempo e o baixo custo envolvidos na coleta dessas informações (MACIEL et al., 2002). Algumas disciplinas científicas têm se destacado nesta tarefa: a etnobotânica que se ocupa da "inter-relação direta entre pessoas e plantas" incluindo todas as formas de percepção e apropriação dos recursos vegetais, permitindo a preservação desses conhecimentos populares (ALBUQUERQUE, 2005), incluindo dentro desta, a etnoveterinária que foca nos estudos das práticas tradicionais utilizadas na atenção e promoção da saúde animal, e a etnofarmacologia que é o estudo dos preparados tradicionais utilizados em sistemas de saúde e doença, avaliando a eficácia das técnicas "tradicionais" fazendo uso de um grande número de modelos farmacológicos (WALLER, 1993). A constante integração entre saberes contribui muito para a aquisição de novos conhecimentos, auxiliando os pesquisadores na busca da cura para diversas doenças (BITTENCOURT et al., 2002).

No Brasil, e especialmente, no Cerrado, os trabalhos realizados para resgatar e documentar os conhecimentos tradicionais sobre a utilização de plantas medicinais nos tratamentos veterinários ainda são escassos, sendo apenas encontrado um estudo etnoveterinário realizado por Viu e Viu (2011) na cidade de Jataí-GO. Levando-se em conta que esse bioma vem sofrendo grande pressão humana para intensificação da produção agrícola, a necessidade da documentação dos conhecimentos tradicionais se torna extremamente necessária.

Por fim, a abordagem etológica é orientada para avaliar o uso, por animais, de metabólitos secundários ou outras substâncias encontrados nas plantas com o objetivo de combater as doenças ou controlá-las (CARRAI et al., 2003; HUFFMAN, 2003). Fundamentando a idéia do consumo proposital das propriedades medicinais, sabe-se que esta prática está relacionada não somente as propriedades medicinais das plantas relacionadas aos compostos secundários, mas também na relação consumidor-planta (HUFFMAN, 2003; JESUS, 2013). Jesus (2013) sugere ainda que o consumo destas espécies pode estar

relacionado a automedicação profilática, visto que a mistura dos nutrientes fornece um balanço nutricional e a consequente manutenção da saúde.

Evidências de comportamento de automedicação em macacos africanos, para combater infecções parasitárias, positivamente aponta para esta nova abordagem em pesquisas (HUFFMAN, 2003; 2006;. KRIEF et al, 2004; 2005) e estudos recentes sugerem a automedicação por ovelhas contra infecções por parasitas gastrointestinais (LISONBEE et al, 2009; VILLALBA et al, 2010;. JHUNKE et al, 2012). Jesus (2013) observou que a maioria das espécies consumidas por bugios pretos (*Alouatta caraya*) na Estância Casa Branca, Alegrete (RS), apresentam algum uso medicinal por populações humanas. Costa et al (2006) observaram que várias plantas naturalmente forrageadas por cervo-do-pantanal (*Blastocerus dichotomus* (Illiger, 1815)) e veado-campeiro (*Ozotoceros bezoarticus* (Linnaeus, 1758)) no Pantanal brasileiro são medicinais ou pertence a um gênero medicinal. De acordo Provenza e Villalba (2010) a natureza química e a concentração dos metabólitos secundários presentes na dieta podem beneficiar herbívoros quanto a melhoria das condições de saúde.

Esse tipo de abordagem utilizando plantas da dieta dos animais como critério de seleção para a busca de substâncias potencialmente terapêuticas vem se mostrando promissor. Simoni et al (2014) avaliaram extratos e frações de 19 espécies de plantas da dieta de veados, baseados nos estudos de Costa et al. (2006) contra herpesvírus bovino e suíno, reovírus aviário e vírus da doença da bursa (IBDV) e 14 espécies de plantas apresentaram atividade antiviral, exceto contra IBDV. Moraes-Costa et al (2015) ao estudar espécies de plantas naturalmente selecionadas por ovinos em área de Cerrado, constataram que cinco espécies mostraram eficácia na inibição do desenvolvimento da larva de *H. contortus*, dentre as nove espécies com maior índice de seletividade pelos animais.

2.6. Validação de plantas com atividade anti-helmíntica

Embora a maioria das evidências seja obtida da sabedoria popular, é importante que estudos controlados sejam utilizados para validar e quantificar cientificamente a atividade antiparasitária das plantas, pois nem sempre as atividades atribuídas à planta são confirmadas cientificamente (ATHANASIADOU et al., 2007). Além disso, os estudos científicos são muito importantes para estabelecer a eficácia, a dose correta, a melhor via de administração e a ausência de toxicidade do medicamento vegetal (McGAW; ELOFF, 2008).

A validação científica da atividade anti-helmíntica de plantas medicinais é caracterizada pela realização de testes *in vitro* e *in vivo* que incidam sobre os diferentes estágios de desenvolvimento do parasita, o que permite reconhecer a existência de propriedades anti-

helmínticas e caracterizar as formas de atuação de extratos sobre as fases parasitárias expostas aos mesmos (ALONSO DIAZ et al., 2011).

Através de resultados de ensaios *in vivo*, foi possível verificar que a atividade de extratos vegetais (especialmente de plantas taniníferas) tem sido associada com três principais efeitos potenciais sobre o ciclo de vida do nematoide (HOSTE et al., 2012):

- a) Uma diminuição no estabelecimento das larvas infectantes de terceiro estágio, que contribui para reduzir o nível de infecção do hospedeiro;
- b) a excreção reduzida de ovos de nematóides dos vermes adultos, devido à diminuição da população de adultos e/ou decréscimo da fertilidade das fêmeas adultas; e,
- c) retardo ou inibição do desenvolvimento dos ovos até L3.

Ressaltando que os efeitos citados em b e c contribuem para reduzir a contaminação ambiental pelas formas infectantes e, conseqüentemente, os riscos para os animais.

2.6.1 Testes *in vitro*

Os testes *in vitro* são muito utilizados como triagem inicial e apresentam como principais vantagens a rapidez, o baixo custo e a possibilidade de avaliar um grande número de plantas sem a necessidade de utilizar animais de experimentação (CAMURÇA-VASCONCELOS et al., 2005). Outra vantagem desses testes é a possibilidade de testar metabólitos secundários vegetais isolados sem a interferência de outros componentes da planta ou de nutrientes ingeridos pelo animal. Além disso, determina a ação ovicida e larvicida de extratos vegetais ou óleos essenciais, bem como norteia sobre o provável mecanismo de ação baseado na forma como os anti-helmínticos sintéticos agem (GITHIORI et al., 2006).

Os ensaios *in vitro* mais utilizados são testes de eclosão de ovos (TEO), testes de inibição de desenvolvimento (TDL) e da migração larvar (TIML), Teste de Inibição da alimentação larvar (TIAL), teste de desembainhamento larvar artificial (TDLA) e o teste de motilidade de adultos (TMA) para avaliar a ação de extratos ou constituintes vegetais sobre os processos fisiológicos de nematóides de vida livre ou parasitas de animais (VARADY; CORBA, 1999; JACKSON; COOP, 2000; GITHIORI et al., 2006; IQBAL et al., 2006; ALONSO-DÍAZ et al., 2008).

O teste de eclodibilidade dos ovos (COLES et al., 1992) tem a finalidade de avaliar a capacidade dos extratos em impedir a eclosão de larvas dos ovos submetidos ao contato com o mesmo. O que se observa nas avaliações dos compostos bioativos é a interrupção do processo

de desenvolvimento blastular do embrião do nematoide (NERY et al., 2009) ou inibição das vias enzimáticas ou de enzimas associadas a eclosão dos ovos.

O teste de inibição do desenvolvimento larval (COLES et al., 2006; TAYLOR, 1990) inicialmente utilizado para estudos referentes a resistência a benzimidazóis e levamisol, por sua vez, também tem aplicação a pesquisa de extratos com atividade biológica (CHAGAS et al., 2010), sendo talvez o teste mais abrangente. Isso ocorre uma vez que, em organismo complexo como os nematoides, em que o equilíbrio dinâmico entre seus diversos sistemas orgânicos é imprescindível ao seu desenvolvimento, compostos que tenham a capacidade de comprometer qualquer ponto que desestabilize a homeostase desses sistemas, podem ser identificados, em detrimento a outros testes que se detêm a análises mais restritas. Embora a técnica tenha vantagens, o longo período de incubação faz com que poucos laboratórios tenham utilizado este teste como uma triagem primária *in vitro* (JACKSON; GORDON, 2008).

Mesmo sendo um teste de elevada acurácia, sua implantação no estudo da resistência aos antiparasitários ou mesmo em ensaios de bioprospecção pode sofrer limitações, sendo estas relacionadas as espécies de helmintos de interesse. Testes de desenvolvimento larval vêm sendo realizados para helmintos de ovinos e caprinos (TAYLOR, 1990), suínos (VÁRADY et al., 1996) e eqüinos (CRAVEN et al., 1999), no entanto, para nematóides de bovinos há poucos estudos e os mesmos se restringem ao gênero *Cooperia* (MSHANGA, 2007).

O Teste da inibição da alimentação larvar determina o efeito da planta sobre o comportamento de alimentação de L1 que são expostas a diferentes concentrações do produto por um período de 2 a 4 horas. Após esta incubação, as larvas são alimentadas com *Escherichia coli* liofilizada e marcada com isotiocianato de fluoresceína. As larvas que se alimentaram podem ser facilmente identificadas com um microscópio de fluorescência pela presença de *E. coli* marcada no seu intestino (ALVAREZ-SANCHEZ et al., 2005).

O teste de desembainhamento larvar artificial utiliza L3 em um processo que objetiva examinar o efeito das plantas testadas sobre a perda da cutícula induzida pela exposição ao hipoclorito de sódio diluído. As larvas devem apresentar uma perda de cutícula progressiva ao exame de microscópio óptico. Para o material controle, 100% das larvas devem perder a cutícula entre 60 a 70 minutos (BRUNET; HOSTE, 2006).

O teste de inibição da migração larval (D'ASSONVILE et al., 1996), visa avaliar compostos que possuem como sítio de ação a musculatura somática, seja pela atuação em vias estimuladoras ou inibitórias. Baseia-se na avaliação da capacidade migratória de L3 sem

cutícula, após período de incubação com a solução tratamento, em ágar gel ou migração através de telas (DEMELER et al., 2010).

O Teste de motilidade em vermes adultos é realizado utilizando adultos coletados diretamente do abomaso de um animal recém-sacrificado. Os adultos são mantidos em meio de cultura contendo o produto vegetal e são observados em diferentes intervalos de tempo, sendo o meio de cultivo é mudado a cada 24h e o cálculo da motilidade é feito para cada observação dividindo-se o número de parasitas imóveis pelo total de parasitas nos poços das repetições (HOUNZANGBE-ADOTE et al., 2005).

2.6.2. Testes *in vivo*

Os testes *in vivo* são onerosos e geralmente se caracterizam pela baixa sensibilidade. Problemas com a absorção através do trato gastrointestinal, e a solubilidade do composto e estabilidade após a ingestão oral são os principais obstáculos para o desenvolvimento de formulações à base de plantas com boa biodisponibilidade e eficácia anti-helmíntica. (KATIKI et al, 2011). A avaliação de propriedades anti-helmínticas é feita através da administração de partes de plantas frescas ou conservadas, extratos ou seus constituintes isolados administrados a animais natural ou experimentalmente parasitados (GITHIORI et al., 2006; HECKENDORN et al., 2007). Os mais usados em ruminantes são: o teste de redução da contagem de ovos nas fezes (FECRT) e o teste controlado (CAMURÇA-VASCONCELOS et al., 2005).

O FECRT fornece uma estimativa da eficácia anti-helmíntica de um produto através da comparação da contagem de ovos nas fezes antes e após o tratamento. Apesar de ser largamente utilizado para monitorar a resistência em nematódeos caracteriza-se por baixa sensibilidade, pois nem sempre existe uma boa correlação entre ovoposição e o número de parasitas adultos no hospedeiro, contudo uma boa correlação tem sido encontrada para contagem de ovos nas fezes de parasitos adultos para *H. contortus* (TAYLOR et al., 2002).

O teste controlado é realizado comparando população de parasitos em animais tratados e não tratado. Esta comparação é realizada durante necrópsia, na qual a carga parasitária encontrada é identificada e contada, diferenciando-se adultos dos estágios larvais e se possível das larvas hipobióticas. Este teste é considerado mais confiável, porém mais caro pois necessita de mão-de-obra mais especializada e abate dos animais (TAYLOR et al., 2002).

2.6.3. Química de compostos fenólicos (Taninos)

As plantas produzem um arsenal de metabólitos secundários que podem elicitar alguma resposta farmacológica ou tóxica sobre outros organismos vivos (BERNHOF, 2010), e estes podem ser utilizados não só para tratamento de doenças humanas, para promover a saúde e produção animal, bem como segurança e qualidade alimentar, conservando ambiente. (MAKKAR et al, 2007; PROPPENGA, 2000). Dentre estes metabólitos, os compostos fenólicos, especialmente os taninos por já terem reconhecida atividade inseticida e anti-helmíntica, têm merecido especial atenção em pesquisas de alternativas anti-helmínticas (GITHIORI et al., 2006; HOSTE et al., 2006, 2012).

Os taninos são compostos fenólicos com alto peso molecular (500 - 3.000 Da) oriundos do metabolismo secundário das plantas. São encontrados tanto em gimnospermas quanto em angiospermas, nas raízes, na casca, nas folhas, nos frutos, nas sementes e na seiva e estão associados aos mecanismos de defesa das plantas contra herbivoria (BATTESTIN; MATSUDA; MACEDO, 2004; PAIS, 1998). De acordo com a estrutura química apresentada, os taninos são classificados em dois grupos: taninos condensados e hidrolisáveis (MONTEIRO et al., 2005), sendo a atividade anti-helmíntica sobre nematóides de ruminantes é atribuída aos taninos condensados, pois os hidrolisáveis são degradados gerando produtos de baixo peso molecular que entram na circulação sanguínea causando efeitos tóxicos, principalmente, no fígado e rins (MAKKAR et al., 2007). Existem trabalhos demonstrando as propriedades anti-helmínticas de TC que usando extratos de plantas taniníferas ou frações purificadas em testes *in vitro* (MOLAN et al, 2004; BAHAU et al., 2005; BAHUAUD et al., 2006; ALONSO-DIAZ et al., 2008; NOVOBILSKÝ et al., 2011; 2013) e *in vivo* (ATHANASIADOU et al., 2001; PAOLINI et al., 2003; HOSTE et al., 2006; TERRILL et al., 2009; MAX, 2010; JOSHI et al., 2011).

Existem alguns métodos relativamente simples que fornecem algumas informações úteis sobre taninos e que podem ajudar a elucidar a responsabilidade destes na possível atividade anti-helmíntica apresentada por determinado extrato vegetal. As substâncias polietilenoglicol (PEG) e polivinil polipirrolidona (PVPP) são amplamente utilizadas para testes *in vitro* e *in vivo* por serem consideradas tanino -"neutralizantes" (SILANIKOVE et al, 2001; BRUNET et al, 2008), porém estes não fazem distinção entre taninos condensados e hidrolisáveis e podem não neutralizar perfeitamente os taninos (MAHLO; CHAUKE, 2012) bem como se ligarem a outros polifenóis (BARRAU et al, 2005).

2.7. Cerrado e espécies vegetais selecionadas

O Cerrado é o segundo maior bioma brasileiro, sendo superado em área apenas pela Amazônia, ocupando 21% do território nacional, abrangendo como área contínua os estados de Goiás, Tocantins e Distrito Federal, parte dos estados da Bahia, Ceará, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Piauí, Rondônia e São Paulo, além de ocorrer também em áreas disjuntas ao norte nos estados do Amapá, Amazonas, Pará e Roraima e, ao sul, e, pequenas “ilhas” no Paraná (EITEN, 1994), e é considerado a última fronteira agrícola do planeta (BORLAUG, 2002).

Para Ribeiro e Walter (1998; 2008) o bioma Cerrado é um mosaico vegetacional composto por 11 tipos fisionômicos gerais constituindo formações florestais, savânicas e campestres, sendo que algumas delas apresentam vários subtipos. Estes autores descrevem 25 fitofisionomias para o bioma. A biodiversidade do Cerrado é elevada, porém geralmente menosprezada. Quarenta e quatro por cento da flora é endêmica e, nesse sentido, o Cerrado é a mais diversificada savana tropical do mundo (KLINK; MACHADO, 2005), ou seja, ocorrem apenas nessa região, representando 1,5% de toda a flora mundial (PINTO; DINIZ FILHO, 2005). Essa diversidade manifesta-se na grande quantidade de espécies potencialmente econômicas que inclui as alimentícias, medicinais, ornamentais, forrageiras, apícolas, produtoras de madeira, cortiça, fibras, óleo, tanino, material para artesanato e outros bens, evidenciando sua importância no desenvolvimento regional (FELFILI et al., 2004).

Apesar da grande importância desse bioma, em função da facilidade de desmatamento, boas condições de topografia, histórico de colonização e tipo de terreno, o cerrado é a principal região brasileira produtora de grãos e gado de corte provindos do latifúndio. Com a ocupação das terras do cerrado para a produção agrícola mecanizada, as áreas nativas vêm sendo removidas em um ritmo acelerado e desordenado (AGUIAR; CAMARGO, 2004), restando apenas 20% de áreas consideradas originais ou pouco perturbadas e apenas pouco mais de 6% desses remanescentes estão protegidos em unidades de conservação (PINTO; DINIZ FILHO, 2005). Portanto, a conservação do Cerrado deve ser considerada com questão urgente, além de ser priorizado nas pesquisas em buscas de plantas com compostos bioativos.

2.7.1 *Turnera ulmifolia* L.

A espécie *Turnera ulmifolia* L., (Figura 2) conhecida popularmente por chanana, albina ou damiana, é uma erva anual, pertencente à família Passifloraceae que encontra-se distribuída desde as Guianas até a região sul do Brasil. É considerada uma planta com

potencial ornamental, por possuir flores amarelas vistosas e como invasora e erva daninha, pois cresce preferencialmente em solos arenosos e em encostas, ocorrendo espontaneamente em terrenos baldios e beira de estradas (URBAN, 1883; ARBO 2005). Na medicina popular, é empregada como antiinflamatório, expectorante e no combate a leucorréia, dores em geral, febre, asma, má digestão, úlceras gástricas e duodenais, reumatismo e hemorragias (PIO CORRÊA, 1984; HOSAMANI, 1993).

Estudos demonstraram algumas atividades farmacológicas comprovadas para *T. ulmifolia*, como antiinflamatória, antiulcerogênica (ANTÔNIO; BRITO 1998; GRACIOSO et al, 2002; GALVEZ et al. 2006), antioxidante (NASCIMENTO et al. 2006) e antimicrobiana (KALIMUTHU et al.,2014). Já foram detectados flavonóides, alcalóides, taninos e compostos fenólicos em preparações a partir desta planta (ANTONIO; BRITO, 1998; GRACIOSO et al., 2002; NASCIMENTO et al, 2006). Hosamani (1993) demonstrou a presença de um ácido graxo raro nas sementes desta espécie, chamado de ácido vernólico.



Figura 2. Espécime de *Turneria ulmifolia* L.

2.7.2 *Parkia platycephala* Benth.

A espécie *Parkia platycephala* Benth (Figura 3), membro da família Fabaceae, conhecida popularmente como faveira-preta, visgueiro ou fava-de-bolota, é uma leguminosa arbórea endêmica de áreas de cerrados do Nordeste, na transição para o Semiárido, abrangendo o sul/sudeste do estado do Maranhão e o noroeste do Piauí. A faveira também ocorre na Amazônia, Ceará, Pernambuco e Bahia (NASCIMENTO et al., 1996; BULHÃO; FIGUEIREDO, 2002; FIGUEIREDO et al., 2008). Essa leguminosa apresenta boa produtividade de fitomassa e bons teores de proteína bruta; as suas vagens são apreciadas por ruminantes (MACHADO et al., 1999; ALVES, 2004; CAVADA et al., 2006; ALVES et al.,

2007; MOURA et al., 2008) e as suas folhas e ramos mais finos, até o diâmetro de um lápis, podem ser adicionadas à silagem (CARVALHO et al., 2006). A espécie também é fornecedora de madeira comercial na Amazônia (IBDF, 1987).

A análise fitoquímica revelou a presença de fenóis totais, flavonóides e terpenos no extrato etanólico e frações das folhas de *P. platycephala* (BEZERRA et al., 2009). Algumas propriedades farmacológicas, como gastroprotetora (FERNANDES, 2010) e antinociceptiva (AMORIM, 2010), já foram demonstradas nas folhas desta espécie.

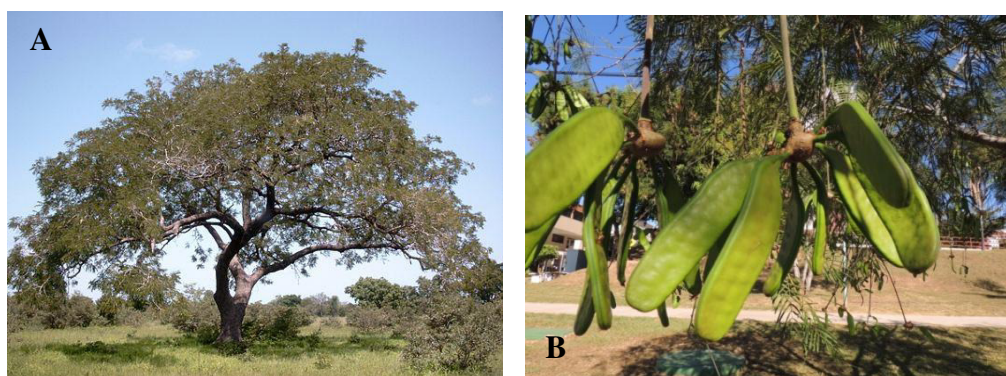


Figura 3. *Parkia platycephala* Benth: (A) Espécime adulto; (B) vagens jovens
Fonte: www.wikiwand.com; rubens-plantasdobrasil.blogspot.com

2.7.3 *Dimorphandra gardneriana* Tul.

Dimorphandra gardneriana Tul. (Figura 4), membro da família Fabaceae, conhecida como fava d'anta ou faveiro, é uma árvore brasileira leguminosa nativa, de ampla distribuição no Cerrado brasileiro, ocorrendo naturalmente nos estados do Maranhão, Piauí, Ceará, Bahia, Pará, Goiás, Mato Grosso e Minas Gerais (MONTANO et al, 2007). Na medicina popular, o fruto verde é usado como anti-hemorrágico, e para o tratamento de hemorroidas, varizes e hematomas e a entrecasca é utilizada como cicatrizante (FILIZOLA, 2013). A partir das sementes dessa espécie, Cunha et al. (2009) isolou uma galactomanana, um polissacarídeo neutro, que de acordo com Pires et al. (2010), tem potencial de uso em cirurgia oftalmológica. Além disso, já foram quantificados os três principais os flavonóides da planta, rutina, quercetina, e isoquercitrina (LANDIM et al.,2013). A rutina é utilizada para abastecimento da indústria farmacêutica e muito exportado pelo Brasil (CUNHA et al., 2009).



Figura 4. *Dimorphandra gardeniana* Tul.: (A) Espécime adulto; (B) vagens maduras
Fonte: pinheiroempauta.blogspot.com; picssr.com

2.7.4 *Acacia mangium* Willd

Acacia mangium Willd (Figura 5) é uma leguminosa tropical pertencente à família Fabaceae, rica em proteínas (MAN et al 1995; VAN et al 2005; SALAZAR et al 2008) e taninos condensados (BARAHONA et al 2003; WINA et al 2010). Possui crescimento rápido e de alta robustez em condições tropicais. Devido à sua capacidade de reciclar os nutrientes, benefício este relacionado com a adição de carbono orgânico e, sobretudo por nitrogênio ao solo, processo realizado pela simbiose com bactérias do gênero *Rhizobium* que se associam às suas raízes, além de elevada produção de biomassa, vem sendo usada na regeneração de áreas danificadas e destacando-se como opção silvicultural em sistemas consorciados, sobretudo em áreas com solos de baixa fertilidade, devido ao seu potencial para produção de madeira com baixo acúmulo de nutrientes (MAN et al. 1995; FARIA *et al.*, 1996; LORENZI et al., 2003 BALIEIRO et al., 2004)

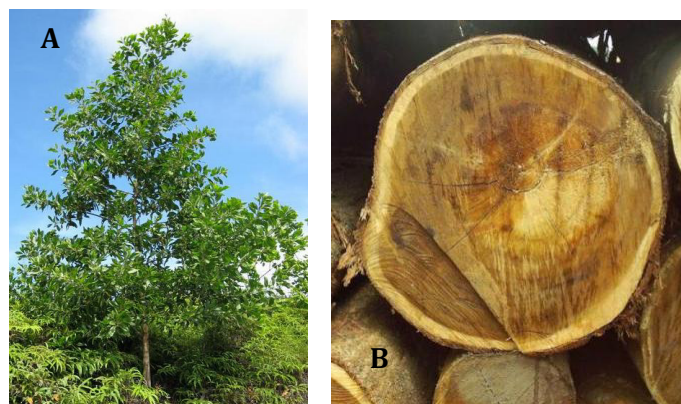


Figura 5. *Acacia mangium* Willd: (A) Espécime adulto; (B) madeira
Fonte: ibflorestas.org.br; www.painelflorestal.com.br

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Desenvolver estudo de bioprospecção da atividade anti-helmíntica de espécies vegetais do cerrado maranhense.

3.2 Objetivos específicos

- Registrar e documentar o conhecimento etnoveterinário de uma comunidade rural no localizada no Cerrado do Estado do Maranhão, Brasil.
- Avaliar a atividade anti-helmíntica *in vitro* contra *Haemonchus contortus* de extratos de espécies vegetais selecionadas por critérios etnoveterinário e etológico.
- Verificar a atividade anti-helmíntica do extrato acetônico de *Acacia mangium* sobre nematóides gastrintestinais de pequenos ruminantes.

REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, U. P. **Introdução à etnobotânica**. 2. ed. Rio de Janeiro: Interciência, 2005. 93 p.
- ALBUQUERQUE, U. P. de; HANAZAKI, Natália. As pesquisas etnodirigidas na descoberta de novos fármacos de interesse médico e farmacêutico: fragilidades e perspectivas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, p.678-689, 2006.
- AGUIAR, L. M. S.; CAMARGO, A. J. A. **Cerrado: ecologia e caracterização**. Planaltina: Embrapa Informação Tecnológica, 2004. 249p.
- ALONSO-DÍAZ, M.A. et al. *In vitro* larval migration and kinetics of exsheathment of *Haemonchus contortus* exposed to four tropical tanniniferous plants. **Veterinary Parasitology**, v.153, n.3-4, p.313-319, 2008.
- ÁLVAREZ-SÁNCHEZ, M.A. et al. The larval feeding inhibition assay for the diagnosis of nematode anthelmintic resistance. **Experimental Parasitology**, v.110, p. 56-61. 2005.
- ALVES, A.A. **Valor nutritivo da vagem de faveira (*Parkia platycephala* Benth.) para ruminantes**. 2004. 198f. Tese (Doutorado em Zootecnia), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2004.
- ALVES, F. S. F. O leite de cabra é tão nutritivo quanto os leites de vaca e materno? **Revista Ciência Hoje**, n.32, p.20-26, 2002.
- ALVES, A. A. et al. Degradabilidade ruminal *in situ* de vagens de faveira (*Parkia platycephala* Benth.) em diferentes tamanhos de partículas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 4, p. 1045-51, 2007.
- AMORIM, V. R. **Avaliação dos efeitos de *Parkia platycephala* Benth no diabetes mellitus experimental**. 2010. 95f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia com ênfase em Plantas Medicinais) – Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2010.
- AMARANTE, A.F.T. **Controle de endoparasitoses dos ovinos**. 2004. Disponível em: < <http://www.fmvz.unesp.br/ovinos/repman4.htm> > Acesso: 25 outubro 2014.
- AMARANTE, A.F.T., et al. Resistance of Santa Inês and crossbred ewes to naturally acquired gastrointestinal nematode infections. **Veterinary Parasitology**, v.165, n.3-4, p.273–80, 2009.
- ANDRONICOS, N., HUNT, P., WINDON, R. Expression of genes in gastrointestinal and lymphatic tissues during parasite infection in sheep genetically resistant or susceptible to *Trichostrongylus colubriformis* and *Haemonchus contortus*. **International Journal of Parasitology**, v.40, p.417–29, 2010.
- ARAÚJO-NETO, J. O. et al. Soroprevalência da leptospirose em caprinos da microrregião do Seridó Oriental, Estado do Rio Grande do Norte, Brasil, e pesquisa de fatores de risco. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 47, n. 2, p. 150- 5, 2010.

ARBO, M. M. Estudios sistemáticos en *Turnera* (Turneraceae). III Series **Anomala** y **Turnera**., v.14, p.115-318, 2005.

ATHANASIADOU, S. et al. Direct anthelmintic effects of condensed tannins towards different gastrointestinal nematodes of sheep: in vitro and in vivo studies. **Veterinary Parasitology**, v.99, n.3, p.205– 19, 2001.

ATHANASIADOU, S. et al. Medicinal plants for helminth parasite control: facts and fiction. **Animal: an international journal of animal bioscience**., v. 1, n.9, p. 1392-400, 2007.

ANTONIO, M. A.; BRITO, A. R. S. Oral anti-inflammatory and antiulcerogenic activities of a hydroalcoholic extract and partitioned fractions of *Turnera ulmifolia* (Turneraceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v.6; n.3, p.215-28, 1998.

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

BALIEIRO, F. C. et al. Acúmulo de nutrientes na parte aérea, na serapilheira acumulada sobre o solo e decomposição de filódios de *Acacia mangium* Willd. **Ciência Florestal**, v.14, n.1, p.59-65, 2004.

BARAHONA, R., et al. In degradability of mature and immature leaves of tropical forage legumes differing in condensed tannin and non-starch polysaccharide content and composition. **Journal of Science Food and Agriculture**, v. 83, p.1256- 66, 2003.

BARRAU, E. et al. Effect of bioactive compounds from Sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) on the in vitro larval migration of *Haemonchus contortus*: role of tannins and flavonol glycosides. **Parasitology**, v.131, p.531– 8, 2005.

BARROS, N. N.; SIMPLÍCIO, A. A. Produção intensiva de ovinos de corte: perspectivas e cruzamentos. In: SIMPÓSIO MINEIRO DE OVINOCULTURA, 1., 2001, Lavras, MG., **Anais...** Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2001, p. 21- 48.

BASSETTO, C.C. et al. Attempts to vaccinate ewes and their lambs against natural infection with *Haemonchus contortus* in a tropical environment. **International Journal of Parasitology**, v.44, n.14, p.1049–54, 2014a.

BASSETTO, C.C. et al. Vaccination of grazing calves with antigens from the intestinal membranes of *Haemonchus contortus*: effects against natural challenge with *Haemonchus placei* and *Haemonchus similis*. **International Journal of Parasitology**, v.44, n. 10, p.697– 702, 2014b.

BATTESTIN, V.; MATSUDA, L. K.; MACEDO, G. A. Fontes e aplicações de taninos e Tanases em alimentos. **Alimentos e Nutrição**, v.15, n.1, p.63-72, 2004.

BENDAZZOLI, W.S. Fitomedicamentos: perspectivas de resgate de uma terapia histórica. **Mundo Saúde**, v.24, n.2, p.123-126, 2000.

BERNHOF, A. A brief review. In: _____ (Ed.), **Bioactive Compounds in Plants: Benefits and Risks for Man and Animals**. Oslo: Norwegian Academy of Science and Letters, 2010. p. 11–7.

BEZERRA, R. D. S. et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de extratos das folhas de *Parkia platycephala* Benth. In: Annual Reunion of the Brazilian Chemistry Society, 32, 2009, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza, 2009.

BISHOP, S. C.; MORRIS, C. A. Genetics of disease resistance in sheep and goats. **Small Ruminant Research**, v.70, p.48-59. 2007.

BITTENCOURT, S. C. et al. O uso das plantas medicinais sob prescrição médica: pontos de diálogo e controvérsias com uso popular. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.12, supl., p.89-91, 2002.

BIZIMENYERA, E. S. et al. In vitro activity of *Peltophorum africanum* Sond. (Fabaceae) extracts on the egg hatching and larval development of the parasitic nematode *Trichostrongylus colubriformis*. **Veterinary Parasitology**, v.142, p. 336–43, 2006.

BLOUIN, M. S. et al. Host movement and the Genetic Structure of Populations of Parasitic Nematodes. **Genetics**, v. 141, p. 1007-14. 1995.

BORLAUG, N.E. Feeding a world of 10 billion people: the miracle ahead. In: BAILEY, R. (ed.). **Global warming and other eco-myths**. Roseville: Competitive Enterprise Institute, 2002. pp. 29-60.

BOWMAN, D. D. **Georgis Parasitologia veterinária**. 9. ed. Rio de Janeiro: Saunders Elsevier, 2010. 432 p.

BRASIL, **Proposta de Política Nacional de Plantas Medicinais e Medicamentos Fitoterápicos**. Ministério da Saúde, Brasília-DF, 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. **Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Brasília, 2009. 136 p.

BRUNET, S.; HOSTE, H. Monomers of Condensed Tannins Affect the Larval Exsheathment of Parasitic Nematodes of Ruminants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 20, p. 7481-7, 2006.

BRUNET, S. et al. Effect of the consumption of *Lysiloma latisiliquum* on the larval establishment of parasitic gastrointestinal nematodes in goats. **Veterinary Parasitology**, v. 157, p. 81-8, 2008.

BULHÃO, C. F.; FIGUEIREDO, P. S. Fenologia de leguminosas arbóreas em uma área de cerrado marginal no nordeste do Maranhão. **Revista Brasileira de Botânica**, v.25, p.361-369, 2002.

BUZZULINI, C. et al. Eficácia anti-helmíntica comparativa da associação albendazole, levamisole e ivermectina à moxidectina em ovinos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, p. 891-895, 2007.

CALIXTO, J. B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (Phytotherapies). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 33, p. 179-189, 2000.

CAMURÇA-VASCONCELOS, A. L. F. et al. Validação de plantas medicinais com atividade anti-helmíntica. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 7, p. 97-106, 2005.

CÁRCERES, A. et al. La etnoveterinária como um instrumento para la atención integral de la producción pecuaria. In: Congresso Italo-Latinoamericano do etnomedicina, 13, Roma. **Anais...** Roma, 2004.

CARRAI, V. Increase in tannin consumption by sifaka (*Propithecus verreauxi verreauxi*) females during the birth season: a case for self medication in prosimians? **Primates**, v.44, p.61-66, 2003.

CAVADA, B. S. et al. cDNA cloning and 1.75 Å crystal structure determination of PPL, endochitinase and – acetylglucosamine binding hemagglutinin from *Parkia platycephala* seeds. **Febs Journal**, v. 273, p. 3962- 74, 2006.

CARVALHO, G.M.C. et al. **Produção de feno no semiárido**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2006. 33p. Documentos 149.

CÉZAR, A. S.; CATTO, J. B.; BIANCHIN, I. Controle alternativo de nematódeos gastrintestinais dos ruminantes: atualidade e perspectivas. **Ciência Rural**, v. 38, n. 7, p. 2083-91, 2008.

CEZAR A. S. et al. Multiple resistance of gastrointestinal nematodes to nine different drugs in a sheep flock in southern Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 173, p. 157-60. 2010.

CHAGAS. A. C. S.; MOLENTO, M. B. Protocolos fenotípicos para nematóides gastrintestinais. In: CHAGAS, A. C. S. et al. (Eds.) **Manual prático: metodologias de diagnóstico da resistência e de detecção de substâncias ativas em parasitas de ruminantes**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica. 2010. p. 23-55.

CHAGAS, A. C. S. et al. **Ovinocultura: controle de verminose, mineralização, reprodução e cruzamentos na Embrapa Pecuária Sudeste**. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2007. Documentos 65.

CHARLIER, J. Practices to optimise gastrointestinal nematode control on sheep, goat and cattle farms in Europe using targeted (selective) treatments. **Veterinary Record**, v.175, p.250-5, 2014.

CHIEJINA, S. N. The epidemiology of helminth infections of domesticated animals in the tropics with emphasis on fascioliasis and parasitic gastroenteritis. In: CHOWDHURY, N.; TADA, I. (Eds.). **Perspectives on Helminthology**. Enfield: Science Publishers Inc., 2001. p. 41-87.

COLDITZ, I.G.; LE-JAMBRE, L.F. Development of a faecal occult blood test to determine the severity of *Haemonchus contortus* infections in sheep. **Veterinary Parasitology**, v. 153, n.1-2, p.93-9, 2008.

COLES, G. C. Cattle nematodes resistant to anthelmintics: why so few cases? **Veterinary Research**, v.33, p.481-9, 2002.

COLES, G.C. et al.. The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. **Veterinary Parasitology**, v..136, p.167-85, 2006.

COOP, R. L.; KYRIAZAKIS, I. Nutrition-parasite interaction. **Veterinary Parasitology**, v. 84, p.187–204, 1999.

COSTA, S.S. et al. Plants composing the diet of marsh and pampas deer in the Brazilian pantanal wetland and their ethnomedicinal properties. **Journal of Biological Science**, v.6, p.840-846, 2006.

COSTA, V. M. M. et al. Controle das parasitoses gastrintestinais em ovinos e caprinos na região semiárida do Nordeste do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n.1, p. 65-71, 2011.

COWAN, M.M. Plants products as antimicrobial agents. **Clinical Microbiology Rewiews**, v.12, n.4, p.564-82, 1999.

CRAVEN, J. et al. A comparison of in vitro test and a faecal egg count reduction test in detecting anthelmintic resistance in horse strongyles. **Veterinary Parasitology**, v. 85, p. 49-59, 1999

CUNHA, P. L. R. et al. Isolation and characterization of galactomannan from *Dimorphandra gardneriana* Tul. seeds as a potential guar gum substitute. **Food Hydrocolloids**, v. 23, p. 880-5, 2009.

D'ASSONVILE, J. A.; JANOVSKY, E.; VERSTER, A. In vitro screening of *Haemonchus contortus* third larvae for ivermectin resistance. **Veterinary Parasitology**, v. 61. p. 73-80, 1996.

DAUDT, R. et al. Screening for the antidepressant activity of some species of *Hypericum* from South Brazil. **Phytotherapy Research**, v.14, p. 344 – 6, 2000.

DEMELER, J., KUTTLER, U.; SAMSON-HIMMELSTJERNA, G. Adaptation and evaluation of three different in vitro tests for the detection of resistance to anthelmintics in gastro intestinal nematodes of cattle. **Veterinary Parasitology**, v.170, p.61-70. 2010.

DE ROSA, A. A. et al. Exsheathment of *Ostertagia ostertagi* infective larvae following exposure to bovine rumen contents derived from low and high roughage diets. **Veterinary Parasitology**, v.129, p.77–81, 2005.

DOMINGO, I. V. **Plantas medicinais para o tratamento de animais**. 2005. Disponível em: <<http://tilz.tearfund.org>>. Acesso em: 12 jan. 2015.

EITEN, G.A. A vegetação do Cerrado. In: PINTO, M.N. (org) 1990. **Cerrado: Caracterização, ocupação e perspectivas**. 2.ed. Brasília: UNB, SEMATEC, 1994. 9-65p.

ELISABETSKY, E.; MORAES, J. A. R. Ethnopharmacology: a technological development strategy. In: International Congress of Ethnobiology, 1, 1988. **Anais...** 1988. p. 111-118,

EYSKER, M. et al. The possibilities and limitations of evasive grazing as a control measure for parasitic gastroenteritis in small ruminants in temperate climates. **Veterinary Parasitology**, v. 129, n. 1-2, p. 95-104, 2005.

FAO. **FAOSTAT Statistics Division** 2015. Disponível em: <<http://faostat.fao.org>>. Acesso em: 15 jan. 2016.

FARIA, M. P. et al. Crescimento inicial da acácia em resposta a fósforo, nitrogênio, fungo micorrízico e rizóbio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 20, n. 2, 1996. p. 209-216.

FELFILI, J. M. et al. Potencial econômico da biodiversidade do Cerrado: estágio atual e possibilidades de manejo sustentável dos recursos da flora. AGUIAR, L. M. S.; CAMARGO, A. J. A. (Eds.). **Cerrado: ecologia e caracterização**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2004. p.177-220.

FERNANDES, H. B. et al. Gastroprotective effect of the ethanolic extract of *Parkia platycephala* Benth. leaves against acute gastric lesion models in rodents. **Biological Research**, v. 43, n. 4, p. 451-457, 2010.

FERNANDES, T. M. **Plantas Medicinais: Memória da Ciência no Brasil**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2004. 260p.

FIGUEIREDO, P.S. et al. Predação e parasitismo em sementes de duas populações de *Parkia platycephala* Benth. em áreas de cerrado no nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v.31, p.245-251, 2008.

FILIZOLA, B. C. **Boas práticas de manejo para o extrativismo sustentável da fava d'anta**. Brasília: Instituto Sociedade, População e Natureza, 2013. 76 p.

FOX, M.T. Pathophysiology of infection with *Ostertagia ostertagi* in cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 46, p. 143-158, 1993.

GABA, S. et al.. Experimental and modeling approaches to evaluate different aspects of the efficacy of Targeted Selective Treatments of anthelmintics against sheep parasite nematodes. **Veterinary Parasitology**, v.171, p.254–262, 2010.

GALVEZ, J. et al. Intestinal antiinflammatory activity of a lyophilized infusion of *Turnera ulmifolia* in TNBS rat colitis. **Fitoterapia**, v.77, p.515-520, 2006.

GENNARI S. M.; AMARANTE A. F. T. Helminths of ovine and caprine. **Biológico**, v.67, p.13-17, 2006.

GEORGE, S. D. et al. The comparative efficacy of abamectin, monepantel and an abamectin/derquantel combination against fourth-stage larvae of a macrocyclic lactone-resistant *Teladorsagia* spp. Isolate infecting sheep. **Veterinary Parasitology**, v. 188, n. 1-2, p. 190-3, 2012.

GITHIORI, J. B. Ethnoveterinary plants preparations as livestock dewormers: practices, popular beliefs, pitfalls and prospects for the future. **Animal Health Research Reviews** v.6, p.91-103, 2005.

GITHIORI, J. B. et al. Use of plants in novel approaches for control of gastrointestinal helminths in livestock with emphasis on small ruminants. **Veterinary Parasitology**, v. 139, p. 308-320, 2006.

GRACIOSO, J.S. et al. Effects of tea from *Turnera ulmifolia* L. on mouse gastric mucosa support the Turneraceae as a new source of antiulcerogenic drugs. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v.25, p. 487- 91, 2002.

GUIMARÃES FILHO, C.; HOLANDA JR., E.V. **A caprinocultura com alternativa de uso sustentado dos recursos do semi-árido: proposições para o desenvolvimento integrado da zona caprinícola do semi-árido baiano**. In: Seminário Internacional Sociedades e Territórios no Semi-Árido Brasileiro: em busca da sustentabilidade. Campina Grande, 2002. Editora UFCG, 2002.

GRAY, G.D. The use of genetically resistant sheep to control nematode parasitism. **Veterinary Parasitology**, v.72, p.345-66, 1997.

GRUNER, L. ; BOUIX, J. ; VU TIEN KHANG, J. La résistance génétique aux nématodes parasites chez les petits ruminants: un caractère de mieux en mieux connu. **Rencontres Recherches Ruminants**, v.8, p.195-198, 1998.

HAENLEIN, G.F.W.; WENDORFF, W. L. Sheep milk: production and utilization of sheep milk. In: PARK, Y. W.; HAENLEIN, G.F.W.) **Handbook of Milks of Non-bovine Mammals**. Ames: Blackwell Publ., 2006. p.137-94.

HAMMOND, J. A. et al. Prospects for plant anthelmintics in tropical veterinary medicine. **Veterinary Research Communications**, v. 21, n. 3, p. 213-228, 1997.

HART, S. Effective and sustainable control of nematode parasites in small ruminants: The need to adopt alternatives to chemotherapy with emphasis on biologic control. In: Simpósio Internacional Sobre Caprinos e Ovinos, 5, 2011, João Pessoa, PB. **Anais...** João Pessoa, 2011 (CD-ROM).

HERTZBERG, H. et al. Kinetics of exsheathment of infective ovine and bovine strongylid larvae *in vivo* and *in vitro*. **Parasitology**, n.125, p.65-70, 2002.

HECKENDORN, F. et al. Individual administration of three tanniferous forage plants to lambs artificially infected with *Haemonchus contortus* and *Cooperia curticei*. **Veterinary Parasitology**, v. 146, p. 123-134, 2007.

HOSAMANI, K.M. Fatty acids in seed oil from *Turnera ulmifolia*. **Phytochemistry**, v.34, p.1363 – 5, 1993.

HOSTE, H. ; LEVEQUE, H. ; DORCHIES, P. Comparison of nematode infections of the gastrointestinal tract in Angora and dairy goats in a rangeland environment: relations with the feeding behaviour. **Veterinary Parasitology**, v.101, p.127- 35, 2001.

HOSTE, H. et al. Distribution and repeatability of nematode faecal egg counts in dairy goats: a farm survey and implications for worm control. **Research in Veterinary Science**, v.72, p.211-5, 2002a

HOSTE, H. et al. Targeted application of anthelmintics to control trichostrongylosis in dairy goats: a result of a 2-year survey in farms. **Veterinary Parasitology**, v.110, p.101–8, 2002b.

HOSTE, H. et al. Gestion non-chimique du parasitisme par les nématodes chez les petits ruminants. **Bulletin G.T.V.** (Horssérie Parasitologie des ruminants laitiers), p.131-5, 2004.

HOSTE, H. et al. The effects of tannin-rich plants on parasitic nematodes in ruminants. **Trends in Parasitology**, v.22, p.253– 61, 2006.

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

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

HOSTE, H. et al. Tannin containing legumes as a model for nutraceuticals against digestive parasites in livestock. **Veterinary Parasitology**, v.212, p.5–17, 2015.

HOUZANGBE-ADOTE, M.S. et al. In vitro effects of four tropical plants on three life-cycle stages of the parasitic nematode, *Haemonchus contortus*. **Research in Veterinary Science**, n.78, p.155- 160. 2005.

HUFFMAN, M.A. Animal self-medication and ethnomedicine: exploration and exploitation of the medical properties of plants. **The Proceedings of the Nutrition Society**, v.63, p.371-81, 2003.

HUFFMAN, M.A. Primate Self-Medication. In: CAMPBELL, C. et al. (Eds.), **Primates in Perspective**. Oxford, UK: University of Oxford Press, 2006. pp. 677-89.

IBGE, **Censo Agropecuário**. Diretoria de Pesquisas, Coordenação de Agropecuária, Pesquisa da Pecuária Municipal, 2015. Disponível em: < www.ibge.gov.br> Acesso em: 12 jan. 2016.

IBDF. Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal. **Padronização da nomenclatura comercial brasileira das madeiras tropicais amazônicas**. Brasília: IBDF, 1987. 85 p.

IQBAL, Z. et al. Anthelmintic activity of *Swertia chirata* against gastrointestinal nematodes of sheep. **Fitoterapia**, v. 77, p. 463-465, 2006.

JACKSON, F.; COOP, R.L. The development of anthelmintic resistance in sheep nematodes. **Parasitology**, v.120, p.95-107,2000.

JACKSON, F.; GORDON, Y. Screening plants for anthelmintic activity- a challenging situation. In: Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária,15, 2008, Curitiba. **Anais...** Curitiba 2008. CD-ROM,

JACKSON, F. et al. Managing anthelmintic resistance in goats: can we learn lesson from sheep? **Small Ruminants Research**, v.103 p.3-9, 2012.

JACQUIET, P. et al. Host range and the maintenance of *Haemonchus* spp. in an adverse arid climate. **International Journal for Parasitology**, v. 28, n. 2, p.253-61, 1998.

JESUS, A. S. **Composição da dieta e intensidade de infecção parasitária em bugios-pretos (*Alouatta caraya*): buscando evidências de automedicação.** 2013. 72f. Dissertação (Mestrado em Zoologia) – Faculdade de Biociências, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

JHUNKE, J. et al. Preference for condensed tannins by sheep in response to challenge infection with *Haemonchus contortus*, **Veterinary Parasitology**, v.188, n.1-2, p.104-14, 2012.

JOSHI, B. R. et al. Effect of feeding sericea lespedeza leaf meal in goats experimentally infected with *Haemonchus contortus*. **Veterinary Parasitology**, v.178, p.192-197, 2011.

KAHN, L.P. Regulation of the resistance and resilience of periparturient ewes to infection with gastrointestinal nematode parasites by dietary supplementation. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 43, p. 1477-85, 2003.

KALIMUTHU, K. et al. Antimicrobial and Antioxidant Activities of Ethanolic Crude Extracts of *Turnera ulmifolia* L. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research**, v.6, n.4, p.329-33, 2014.

KAMINSKY, R. et al. A new class of anthelmintics effective against drug- resistant nematodes. **Nature**, n.452, p.176-80, 2008.

KAMINSKY, R. et al. Determination of the effective dose rate for monepantel (AAD 1566) against adult gastro-intestinal nematodes in sheep. **International Journal of Parasitology**, v.39, p. 443-6, 2009.

KAPLAN, R. M. Drug resistance in nematodes of veterinary importance: a status report. **Trends in Parasitology**, v. 20, n. 10, p. 477-81, 2004.

KATIKI, L.M, et al. Anthelmintic activity of *Cymbopogon martinii*, *Cymbopogon schoenanthus* and *Mentha piperita* essential oils evaluated in four different in vitro tests. **Veterinary Parasitology**, v.183, n.1-2, p.103-8, 2011.

KENYON, F., JACKSON, F. Targeted flock/herd and individual ruminant treatment approaches. **Veterinary Parasitology**, v.186, p.10-17, 2012.

KENYON, F. et al. The role of target selective treatments in the development of refugia-based approaches to the control of gastrointestinal nematodes of small ruminants. **Veterinary Parasitology**, v.164, p.3-11, 2009.

KLINK, C. A.; MACHADO, R. B. A conservação do Cerrado brasileiro. **Megadiversidade**, vol.1, n. 1, julho, 2005, p. 147-155. Disponível em: <http://www.conservacao.org/publicacoes/files/20_Klink_Machado.pdf>. Acesso em 20 maio 2013.

KLONGSIRIWET, C. et al. Synergistic inhibition of *Haemonchus contortus* exsheathment by flavonoid monomers and condensed tannins. **International journal for parasitology. Drugs and drug resistance**, v.5, n.3, p.127-34, 2015.

KOTZE, A.C. et al. Recent advances in candidate-gene and whole-genome approaches to the discovery of anthelmintic resistance markers and the description of drug/receptor interactions. **International journal for parasitology. Drugs and drug resistance**, v. 4, p.164-84, 2014.

KRIEF, S. et al. Novel antimalarial compounds isolated in a survey of self-meditative behavior of wild chimpanzees in Uganda. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v.48, p.3196-3199, 2004.

KRIEF, S. et al. Ethnomedicinal and bioactive properties of plants ingested by wild chimpanzees in Uganda. **Journal of Ethnopharmacology**, v.101, p.1-15, 2005.

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

LANDIM, L.P. et al. Development and validation of HPLC method for the quantification of three flavonoids in a crude extract of *Dimorphandra gardneriana*. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.23, p.58-64, 2013.

LE JAMBRE, L.F. Relationship of blood loss to worm numbers, biomass and egg production in *Haemonchus* infected sheep. **International Journal for Parasitology**, v. 25, p. 269-73, 1995.

LESSA, C.S.S. et al. Avaliação de segurança de uma formulação injetável de nitroxil 34% em caprinos (*Capra hircus*) no Rio de Janeiro, Brasil. **A Hora Veterinária**, v. 138, p. 42-5, 2004.

LEATHWICK, D.M.; BESIER, R.B. The management of anthelmintic resistance in grazing ruminants in Australasia—Strategies and experiences. **Veterinary Parasitology**, v.204, p.44-54, 2014.

LIMA, W.C. et al. Nematóides resistentes a alguns anti-helmínticos em rebanhos caprinos no Cariri paraibano. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.30, n.12, p.1002-9, 2010.

LISONBEE, L.D. et al. Tannins and self medication: Implications for sustainable parasite control in herbivores. **Behavioural processes**, v.82, p.184-9, 2009.

- LORENZI, H. **Árvores Exóticas no Brasil: Madeiras, ornamentais e aromáticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum., 2003. 352p.
- LORENZI, H; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: Nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum., 2002. 544p.
- LORIA, A. et al. Evaluation of the FAMACHA system for detecting the severity of anaemia in sheep from southern Italy. **Veterinary Parasitology**, v.161, n.1-2, p.53-9, 2009.
- LOVE, S.J.C.; COLES, G.C. Anthelmintic resistance in sheep worms in New South Wales, Australia. **The Veterinary Record**, v.150, p.87, 2002.
- LOVE, S.P.J; HUTCHINSON, G.W. Pathology and diagnosis of internal parasites in ruminants. **Veterinary Science**, v.16, p.309 - 38, 2003.
- MACIEL, M. A. et al. Plantas medicinais: A necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v. 25, p. 429-38, 2002.
- MACHADO, F.A. et al. Valor nutritivo da vagem de faveira (*Parkia platycephala* Benth.). **Revista Científica de Produção Animal**, v.1, p.39-43, 1999.
- MAHLO, S; CHAUKE, H. R. The effectiveness of Polyethylene glycol (PEG) and polyvinyl polypyrrolidone (PVPP) on removal of tannins from leaf extracts of selected medicinal plants in Limpopo Province. **African Journal of Biotechnology**, v.11, p.1041- 5, 2012.
- MAKKAR, H.P.S. et al. Bioactivity of phytochemicals in some lesser-known plants and their effects and potential applications in livestock and aquaculture production systems. **Animal**, v.1, p.1371- 91, 2007.
- MALLET, S.; LESAGE, M.C. Relationship between exsheathment and enzyme activity (alkaline phosphatase and leucine amino peptidase) during ageing of *Trichostrongylus colubriformis* infective larvae. **Annals of Veterinary Research**, n.18, p.275-8, 1987.
- MAN, N.V.; HAO, N.V.; TRI, V.M. Biomass production of some leguminous shrubs and trees in Vietnam. **Livestock Research for Rural Development**, v. 7, n.2, p.1-4, 1995.
- MAX, R. A. Effect of repeated wattle tannin drenches on worm burdens, faecal egg counts and egg hatchability during naturally acquired nematode infection in sheep and goats. **Veterinary Parasitology**, v.169, p.138-143, 2010.
- McKENNA, P.B. Update on the prevalence of anthelmintic resistance in gastrointestinal nematodes of sheep in New Zealand. **New Zealand Veterinary Journal**, v.58, p.172-3, 2010.
- McGAW, L. J.; ELOFF, J. N.; Ethnoveterinary use of southern African plants and scientific evaluation of their medicinal properties. **Journal of Ethnopharmacology**, v.119, n.3, p.559-74, 2008.
- MOLAN, A.L. et al. Green tea flavan-3-ols and oligomeric proanthocyanidins inhibit the motility of infective larvae of *Teladorsagia circumcincta* and *Trichostrongylus colubriformis* *in vitro*. **Research in Veterinary Science**, v. 77, n. 3, p. 239-243, 2004.

- MOLENTO, M.B. Guia FAMACHA para diagnóstico clínico de parasitoses em pequenos ruminantes. **Arquivo de Ciências Veterinárias e Zoologia da Fnipar**, v. 3, p. 175-178, 2000.
- MOLENTO, M.B. et al. Challenges of nematode control in ruminants: Focus on Latin America. **Veterinary Parasitology**, v.180, p.126-132, 2011.
- MONTEIRO, J. M. et al. Taninos: Uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova**, v. 28, p. 892-896, 2005.
- MORAIS-COSTA, F. et al. Plants of the Cerrado naturally selected by grazing sheep may have potential for inhibiting development of *Haemonchus contortus* larva. **Tropical Animal Health Production**, v.47, p.1321–1328, 2015.
- MORTENSEN, L. L. et al. Evaluation of prevalence and clinical implications of anthelmintic resistance in gastrointestinal nematodes of goats. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 23, p. 495-500, 2003.
- MONTANO, H.G. Phytoplasma in “fava d’anta” tree (*Dimorphandra gardneriana*) in Brazil. **Bulletin of Insectology**, v.60, n.2, p.147-148, 2007.
- MORAES, F. R. **Uso de marcadores imunológicos na avaliação da resposta imune dos ovinos à infecção natural por nematódeos e na seleção de animais resistentes às parasitoses**. 2002. 194 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2002.
- MOURA, R.L. de et al. Proteína e nitrogênio em árvores e arbustos para uso em sistema silvipastoril. In: CONGRESSO NORDESTINO DE PRODUÇÃO ANIMAL, 5., 2008, Aracaju. SNPA. **Anais...** Aracaju: Sociedade Nordestina de Produção Animal, 2008.
- MSHANGA, D. A. **Development of in vitro assays for detection of anthelmintic resistance in cattle nematodes**. 2007. 184 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal)-Massey University, Palmerston North, New Zealand, 2015.
- NASCIMENTO, M.A et al. *Turnera ulmifolia* L. (Turneraceae): Preliminary study of its antioxidant activity. **Biores Technology**, v.97, p.1387- 91, 2006.
- NASCIMENTO, M.P.S.C.B. et al. **Forrageiras nativas da Bacia do Parnaíba: usos e composição química**. Teresina/ Recife: Embrapa CPAMN/PNE, 1996. 86p.
- NERY, O.S.; DUARTE, E.R.; MARTINS, E.R. Eficácia de plantas para o controle de nematoides gastrintestinais de pequenos ruminantes: revisão de estudos publicados. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v.11, p.330-8, 2009.
- NOGUEIRA-FILHO, A.; KASPRZYKOWSKI, J.W.A. **O agronegócio da caprinoovinocultura no Nordeste brasileiro**. Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil, 2006. 56p.

NOVAIS, T. S. et al. Atividade antimicrobiana em alguns extratos de vegetais de semi-árido brasileiro. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, supl. 2, p. 5-7, 2003.

NOVOBILSKÝ, A. et al. Condensed tannins act against cattle nematodes. **Veterinary Parasitology**, v.182, p.213– 220, 2011.

NOVOBILSKÝ, A. et al. In vitro effect of extracts and purified tannins of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) against two cattle nematodes. **Veterinary Parasitology**, v.196, p.532–537, 2013.

O'CONNOR, L. J. et al.. Ecology of the free-living stages of major trichostrongylid parasites of sheep. **Veterinary Parasitology**, v.142, p.1-15, 2006.

PAOLINI, V. et al. Effect of condensed tannins on goats experimentally infected with *Haemonchus contortus*. **Veterinary Parasitology**, v. 113, p. 253-261, 2003.

PAIS, M.P. **Valor Nutritivo e Investimento em Defesas em folhas de *Didymopanax vinosum* E.March e sua Relação com a herbivoria em três fisionomias de Cerrado**. 1998. 106p. Dissertação (Mestrado – Área de Concentração em Entomologia) - Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 1998.

PAPADOPOULOS, E.; GALLIDIS, E.; PTOCHOS, S.. Anthelmintic resistance in sheep in Europe: A selected review. **Veterinary Parasitology**, v.189, p.85-8, 2012.

PIO CORREA, M. **Dicionário de Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas**. Vol. IV. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, 1984.

PINHEIRO, R. R. et al.. Aspectos epidemiológicos da caprinocultura cearense. **Arquivos Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.52, p.534-43,2000.

PINTO, M. P.; DINIZ FILHO, J. A. F. Biodiversidade no Cerrado. In: ALMEIDA, M. G. (org.). **Tantos Cerrados**: múltiplas abordagens sobre a biogeodiversidade e singularidade cultural. Goiânia: Editora Vieira, 2005, p.115-128.

PIRES, N.R. et al. Visco elásticos oftálmicos:comparação entre os comerciais e formulações de galactomanana de *Dimorphandra gardneriana*. **Química Nova**, v.33, p.1709–1713, 2010.

POMROY, W.E. Anthelmintic resistance in New Zealand: a perspective on recent findings and options for the future. **New Zealand veterinary journal**, v.54, p.265-70, 2006.

PROPPENGA, R. H. **Introduction to Poisonous Plants of Veterinary Importance**. 2000. Disponível em: [www.url:http://cal.vet.upenn.edu/poison/ppstintro.htm](http://cal.vet.upenn.edu/poison/ppstintro.htm). Acesso em: 12 jan.2016.

PROVENZA, F.D.; VILLALBA, J.J. The role of natural plant products in modulating the immune system: An adaptable approach for combating disease in grazing animals. **Small Ruminants Research** v.89, p.131-9, 2010.

QUIJADA, J. **Relation structure/activite de tanins bioactifs contre les nematodes gastrointestinaux (*Haemonchus contortus*) parasites des petits ruminants**. 2015. 275f.

Tese (Doutorado em Patologia, toxicologia, genética e nutrição)- Sciences Ecologiques, Vétérinaires, Agronomiques et Bioingénieries (SEVAB)- Universidade de Toulouse, Toulouse, França, 2015.

RAHMAN, W.A., COLLINS, G.H. The establishment and development of *Trichostrongylus colubriformis* in goats. **Veterinary Parasitology**, v.35, p.195-200, 1990.

RAMALHO, L. et al. Resistência do *Haemonchus contortus* e outros parasitas gastrintestinais ao levamisol, closantel e moxidectina em um rebanho ovino no noroeste do Paraná, Brasil. In: Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária. **Anais...**, 2008.

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

RIBEIRO, A. Q. et al. Perfil de utilização de fitoterápicos em farmácias comunitárias de Belo Horizonte sob a influência da legislação nacional. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n 1, p. 65-70, 2005.

RIBEIRO, J. F., WALTER, B. M. T. Fitofisionomia do bioma cerrado: os biomas do Brasil. In: SANO, S.M., ALMEIDA, S.P., (ed). **Cerrado: ambiente e flora**. Planaltina: Embrapa/CPAC, 1998. 89-116p.

RIBEIRO, J.F.; WALTER, B.M.T.. As principais fitofisionomias do Bioma Cerrado. In: SANO, S.M., RIBEIRO, J.F. (ed). **Cerrado: ecologia e flora**. Planaltina: Embrapa/CPAC. 2008. p.151-212.

RIET-CORREA, B. et al. Sistemas produtivos de caprinocultura leiteira no semiárido nordestino: controle integrado das parasitoses gastrointestinais visando contornar a resistência anti-helmíntica. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 7, p. 901-8, 2013.

ROCHA, R. A. et al. Recuperação de larvas infectantes de *Trichostrongylus colubriformis* em três espécies de gramíneas contaminadas no verão. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v.17, p.227-34, 2008.

ROCHFORT, S. et al. Plant bioactives for ruminant health and productivity. **Phytochemistry**, v.69, p.299-322, 2008.

ROGERS, W.P.; SOMMERVILLE, R.I. The infectious process and its relation to the development of early parasitic stages of nematodes. **Advances in Parasitology**, v.6, p.327-48, 1968.

SAGER, H. et al. Efficacy of monepantel, derquantel and abamectin against adult stages of a multi-resistant *Haemonchus contortus* isolate. **Parasitology Research**, v. 111, p. 2205-07, 2012.

SALAZAR, J.C.S. et al. Chemical Composition and In Vitro Digestibility of Some Tree Species Established in the Amazonian Piedmont. **Zootecnia Tropical**, v.26, p.231-4., 2008.

SALEM, H. B. Nutritional management to improve sheep and goat performances in semiarid regions. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, supl. spe, p. 337- 47, 2010.

SANTOS, A. C. G. et al. Estudo preliminar do parasitismo por helmintos gastrintestinais em ovinos deslanados da Baixada Maranhense. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 13, p. 262, 2004.

SANTOS, M. C. et al. Environmental factors influencing the transmission of *Haemonchus contortus*. **Veterinary Parasitology**, v. 188, v. 3-4, p. 277-88, 2012.

SANTOS, M.A.C.; ELISABETSKY, E. Etnofarmacologia como ferramenta na seleção de espécies de plantas medicinais para triagem de atividade antitumoral. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.2, n.1, p 7-17, 1999.

SCOTT, I. et al. Lack of efficacy of monepantel against *Teladorsagia circumcincta* and *Trichostrongylus colubriformis*. **Veterinary Parasitology**, v. 198, p. 166-71, 2013.

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

SINDAN- Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Saúde Animal. **Mercado**. 2014. Disponível em: <<http://www.sindan.org.br/sd/base.aspx?controle=8>> Acesso: 21 jan 2016.

SILANIKOVE, N. et al. Use of tannin-binding chemicals to assay for tannins and their negative postingestive effects in ruminants. **Animal Feed Science Technology**, v.91, p.69-81, 2001.

SILVA, H. M. Nematodioses gastrintestinais de caprinos: uma revisão. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v.13, n.2, p. 199-208, 2014.

SIMONI, I. C. Plantas com poder curativo na saúde animal. **Instituto Biológico**, São Paulo, n. 155, 2011. Disponível em:<http://www.biologico.sp.gov.br/artigos_ok.php?id_artigo=155>. Acessado em: jan.2016

SIMONI, I.C. et al. Plants from deer diet in the Brazilian Pantanal Wetland as potential source of antiviral and antioxidant compounds. **Virus Reviews and Research**, v.19, n.2, p.1-12, 2014.

SIMPLICIO, A.A.A. Caprino-ovinocultura na visão do agronegócio. **Revista CFMV**, v.7, n.24, p.15-18, 2001.

SMELCEROVIC, A.; SPITELLER, M. Phytochemical analysis of nine *Hypericum* L. species from Serbia and the F.Y.R. **Pharmazie**, v.61, p. 251-2, 2006.

SOTOMAIOR, C. S. et al. Identificação de Ovinos e Caprinos Resistentes e Susceptíveis aos Helmintos Gastrintestinais. **Revista Acadêmica**, v.5, p.397-412, 2007.

SOUTELLO, R. V. G. et al. Seleção de bovinos de corte resistentes a verminose. **Ciências Agrárias**, v. 2, n. 2, p. 53-6, 2002.

SOUZA, A. P. et al. Resistência de helmintos gastrintestinais de bovinos a anti-helmínticos no Planalto Catarinense. **Ciência Rural**, v. 38, n. 5, p. 1363-7, 2008.

SOUZA, P. et al. Período para desinfestação das pastagens por larvas de nematódeos gastrintestinais de ovinos, em condições naturais nos campos de Lages, SC. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 9, p. 159-164, 2000.

STEAR, M.J. et al. Alternatives to anthelmintics for the control of nematodes in livestock. **Parasitology**, v.134, n.2, p.139-51, 2007.

STARKE, W.A. et al. Helminthíases em Búfalos. II - Sobrevivência de larvas de nematódeos parasitos de búfalos jovens nas fezes depositadas em pastagens no município de Selvíria, MS., nos períodos secos e chuvosos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.1, n.1, p.7-15, 1992.

TAYLOR, M. A. A larval development test for detection of anthelmintic resistance in nematodes of sheep. **Research in Veterinary Science**, v. 49, p. 198-202, 1990.

TAYLOR, M. A. et al. Anthelmintic resistance detection methods. **Veterinary Parasitology**, v.103, n.3, p.183-94, 2002.

TAYLOR, M. A. et al. **Parasitologia veterinária**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009. 742 p.

TERRILL, T. H. et al. Efficacy of *Sericea lespedeza* hay as a natural dewormer in goats: dose titration study. **Veterinary Parasitology**, v.163, p.52–56, 2009.

TOLEDO, C. E. M 2002. **Estudos Anatômico, Químico e Biológico das Cascas e Extratos de *Stryphnodendron adstringens* (Martius) Coville, Leguminosae**. 2002. 92 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, SP.

TORRES-ACOSTA, J.F.J.; HOSTE, H. Alternative or improved methods to limit gastrointestinal parasitism in grazing sheep and goats. **Small Ruminant Research**, v.77, p.159-73, 2008.

TORRES-ACOSTA, J.F.J. et al. Nutritional manipulation of sheep and goats for the control of gastrointestinal nematodes under hot humid and subhumid tropical conditions. **Small Ruminant Research**, v.103, p.28-40, 2012.

THOMAZ-SOCCOL, V. T. et al. Occurrence of resistance to anthelmintics in sheep in Paraná State, Brazil. **Veterinary Record**, v. 139, n. 17, p. 421-2, 1996.

URBAN, I. Monographie der familie der Turneraceen. **Jahrb Königl Bot. Gart. Berlin**, v.2, p.1-155, 1983.

URQUHART, G. M et al. **Parasitologia Veterinária** . 2 ed. Rio de Janeiro :Guanabara Koogan Ltda, 1998.273 p.

VAN, D.T.T.; MUI, N.T.; LEDIN, I., Tropical foliages: effect of presentation method and species on intake by goats. **Animal Feed Science Technology**, v.118, p.1–17. 2005.

VAN WYK J.A. et al. Anthelmintic resistance in South Africa: surveys indicate an extremely serious situation in sheep and goat farming. **Onderstepoort journal of veterinary research**, v.66, p.273-84, 1999.

VAN WYK, J.A.; BATH, G.F. The FAMACHA system for managing haemonchosis in sheep and goats by clinically identifying individual animals for treatment. **Veterinary Research**, v.33, p.509-29, 2002.

VAN WYK, J. A. et al. Anthelmintic resistance reverted by dilution with a susceptible strain of *Haemonchus contortus* in the field: Preliminary report. In: Proceedings of the 5th International Sheep Veterinary Congress, **Anais...** Stellenbosch, p.194-195, 2001.

VAN WYK, J.A. et al. Targeted selective treatment for worm management-How do we sell rational programs to farmers? **Veterinary Parasitology**, v.139, p.336-46, 2006.

VARADY, M.; CORBA, J. Comparison of six in vitro test in determining benzimidazole and levamisole resistance in *Haemonchus contortus* and *Ostertagia circumcincta* of sheep. **Veterinary Parasitology**, v.80, 239-249. 1999.

VEGLIA, F. The anatomy and life-history of the *Haemonchus contortus* (Rud). **Third and Fourth Annual Reports of the Director of Veterinary Research**, Union of South Africa, Pretoria, p. 349-500, 1915.

VERÍSSIMO C. J. et al. Multidrug and multispecies resistance in sheep flocks from São Paulo state, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.187, p.209-16, 2012.

VIEIRA, L. S. **Endoparasitoses gastrintestinais em caprinos e ovinos**. Sobral: EMBRAPA CAPRINOS, 2005.

VIEIRA, L.S.; CAVALCANTE, A.C.R. Avaliação de Plantas Medicinais no controle de *Haemonchus contortus* de caprino. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.1, p.39-41, 1991.

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

VILLALBA, J.J. et al. Selection of tannins by sheep in response to gastro-intestinal nematode infection. **Journal of Animal Science**, v. 88, p. 2189- 98, 2010.

VIU, A. F. M.; VIU, M. A. O. et al. Cerrado e etnoveterinária: o que se sabe em Jataí - GO? **Revista Brasileira De Agroecologia**, v.6, n.3, 49-61,2011.

VLASSOFF, A.; LEATHWICK, D. M.; HEATH, A. C. G. The epidemiology of nematode infections of sheep. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 49, n.6, p. 213- 21, 2001.

WALLER, D.P. Methods in ethnopharmacology. **Journal of Ethnopharmacology**, v.38, p.189-95, 1993.

WALLER, P.J. From discovery to development: current industry perspectives for the development of novel methods of helminth control in livestock. **Veterinary Parasitology**, v.139, p.1-14, 2006a.

WALLER, P.J. Sustainable nematode parasite control strategies for ruminant livestock by grazing management and biological control. **Animal Feed Science Technology**, v.126, p.277-89, 2006b.

WANDER, A.E. et al. A caprino-ovinocultura como alternativa de geração de emprego e renda no Nordeste do Brasil. Sobral, 2003. Encontro Estadual de caprino-ovinocultura, 1. Ceará. **Anais...** Sobral, 2003.

WINA, E.; SUSANA, I.W.R.; TANGENDAJA, B. Biological Activity of Tannins from *Acacia mangium* Bark Extracted by Different Solvents. **Media Peternakan**, v.33, p.103-7, 2010.

WINDON, R.G. Genetic control of resistance to helminthes in sheep. **Veterinary immunology and immunopathology**, v.54, p.245-54, 1996.

WOLSTENHOLME, A. J. et al. Drug resistance in veterinary helminths. **Trends in Parasitology**, v. 20, n. 10, p. 469-476. 2004.

YWATA, C. et al. **Medicina Natural**. São Paulo: Três, 2005. p 35.

ZAJAQ, A. M. Gastrointestinal Nematodes of Small Ruminants: Life Cycle, Anthelmintics, and Diagnosis. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 22, p. 529-541. 2006.

4. CAPÍTULO 1

Conhecimento etnoveterinário de plantas medicinais e práticas entre os habitantes de uma comunidade rural em uma área de Cerrado no Maranhão, Brasil

Ethnoveterinary medicinal plant knowledge and practice among the inhabitants of a rural community in the cerrado (Brazilian savanna) in Maranhão, Brazil

RESUMO

Relevância Etnofarmacológica: O cerrado brasileiro é uma savana tropical com a maior diversidade de plantas no mundo. No entanto, a agricultura e pecuária em larga escala no Brasil têm levado ao desmatamento rápido e comunidades rurais foram transferidas para as cidades, resultando na perda de conhecimento etnoveterinário nas gerações mais jovens. Há poucos estudos etnoveterinários no cerrado, e documentação e análise do uso da planta de cerrado são necessários. **Material e métodos:** O trabalho de campo foi realizado em área de cerrado no Maranhão, Brasil. Foram realizadas entrevistas semi-estruturadas com quarenta e oito indivíduos da comunidade local. O valor de uso, o fator de consenso informante e importância relativa foram calculados para cada planta citada com base em relatos de uso e análise quantitativa foi realizada utilizando métodos estatísticos descritivos da distribuição de frequência. **Resultados:** Foram registradas 47 espécies de plantas, pertencentes a 45 gêneros e 26 famílias. As principais famílias citadas foram Fabaceae (11 espécies), Anacardiaceae (4 espécies) e Malvaceae (3 espécies). Três espécies apresentaram alto valor de uso e de importância relativa: *Bowdichia virgilioides* H. B. & K, *Dimorphandra gardneriana* Tul. e *Terminalia fagifolia* Mart. & Zucc. Foram relatados 23 usos medicinais diferentes, destacando-se anti-helmíntico (17 espécies), tratamento da coriza infecciosa em aves (12 espécies), cicatrização (10 espécies), diarreia (8 espécies) e ectoparasitas de aves (5 espécies). Cascas são mais utilizadas, especialmente em preparados por maceração. Além disso, os entrevistados relataram o uso de produtos animais e minerais para tratar a doença animal. **Conclusões:** O conhecimento tradicional permite a identificação de espécies de cerrado com grande potencial medicinal. Este conhecimento do uso de plantas medicinais precisa ser conservado e incorporado em serviços de cuidados de saúde dos animais.

Palavras-chave: comunidades rurais, conservação, etnoveterinária, plantas medicinais

Submetido ao Periódico: Journal of Ethnopharmacology

Ethnoveterinary medicinal plant knowledge and practice among the inhabitants of a rural community in the cerrado (Brazilian savanna), Brazil

Andreia F. Oliveira¹, Livio M. Costa Junior^{1*}

1. Departamento de Patologia, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Maranhão, Maranhão, Brazil.

*Corresponding author

Tel.: +55 98 32729547

E-mail address: livio.martins@ufma.br; livioslz@yahoo.com

Abstract

Ethnopharmacological relevance: The cerrado is a tropical savanna with the highest plant diversity in the world. However, agriculture and large-scale livestock production in Brazil has led to rapid deforestation, and rural communities have been relocated to cities, resulting in the loss of ethnoveterinary knowledge in younger generations. There have been few ethnoveterinary studies in the cerrado, and documentation and analysis of cerrado plant use and efficacy are needed.

Materials and methods: Fieldwork was conducted in the cerrado area in Maranhão, Brazil. Semi-structured interviews were conducted with forty-eight individuals from the local community. Use value, informant consensus factor and relative importance were calculated for each cited plant based on use reports, and quantitative analysis was performed using descriptive statistical methods of frequency distribution.

Results: There were 47 plant species belonging to 45 genera and 26 families. The main families cited were Fabaceae (11 species), Anacardiaceae (4 species) and Malvaceae (3 species). Three species presented high value of use and of relative importance: *Bowdichia virgilioides* H. B. & K, *Dimorphandra gardneriana* Tul.e *Terminalia fagifolia* Mart. & Zucc. 23 different medicinal uses have been reported, highlighting anthelmintic (17 species), for treating infectious coryza birds (12 species), wound healing (10 species), diarrhea (8 species) and poultry ectoparasites (5 species).

Conclusion: Traditional knowledge allows for the identification of cerrado species with high medicinal potential. This knowledge of medicinal plant use needs to be conserved and incorporated into existing livestock health care services.

Keywords: rural communities, conservation, ethnoveterinary, medicinal plants

1. Introduction

Medicinal plants are widely used by farmers for the purposes of maintaining or restoring animal health, as an alternative or complementary veterinary treatment. Fresh vegetables, plant extracts and phytotherapeutic medicines are used (Simoni, 2011).

Therapy based on plants is of particular importance to small farmers and isolated communities, due to the increasing costs of veterinary services, the difficulty of acquiring synthetic drugs and the growing demand for organic food (Cárceres et al., 2004; Domingo, 2005; Bartha et al., 2015). Recently, declines in the transmission and implementation of traditional knowledge have been exacerbated by environmental degradation, decreasing herd numbers, expanded availability of synthetic medicines and general cultural and socioeconomic changes around the world. Nevertheless, several groups have preserved the old traditions through home practices and oral transmission of knowledge (Bartha et al., 2015).

Brazil is a country with six ecological domains containing high botanical diversity (Brasil, 2006). However, ethnoveterinary studies focusing on plants are scarce (Barboza et al., 2007). The Brazilian savanna (cerrado) is the second largest biome in Brazil (Ribeiro and Walter, 1998). It is considered the tropical savanna with the highest plant diversity in the world (WWF; PROCER, 1995) and offers a wide range of ecological systems due to its peculiar combination of edaphic and climatic conditions. These conditions, combined with the altitude, created a region with diverse vegetation (Eiten, 1994). In addition to the biological diversity, the biome also has enormous cultural diversity. Numerous traditional, indigenous and riverine communities have lived there for thousands of years, surviving by hunting, fishing, extraction and agriculture (Barbosa and Schimiz, 1998).

However, agriculture and large-scale livestock production in Brazil has led to rapid deforestation. As mechanized farms have taken over the cerrado, the wild areas have been removed at a rapid pace (Aguilar and Camargo, 2004). The traditional communities have been relocated to cities, and their ethnoveterinary knowledge has been lost to subsequent generations. In spite of this loss, only one ethnoveterinary study in the cerrado has been performed prior to this (Viu and Viu, 2011), in a region 1,400 Km to the north. Thus, the documentation and analysis of cerrado plant use and efficacy are needed.

Given the importance of information on the use of medicinal plants and the current lack of ethnoveterinary information in the Brazilian savanna biome, it is essential and urgent to document this knowledge to prevent its complete loss. The aim of this study was to record

and analyse ethnoveterinary knowledge of traditional people in the northern cerrado in Maranhão state, Brazil.

2. Material and Methods

2.1. Localization of the area

The present research was conducted in rural Bacuri, located 40 km from the downtown of São Raimundo das Mangabeiras County in Maranhão, Brazil (Figure 1). Bacuri is an agroextractivist settlement composed of 4,846 hectares occupied by 62 families. Small livestock (cattle, small ruminants, chicken, and swine), plant extraction, temporary agriculture, and government transfers are the main sources of funds for these families.

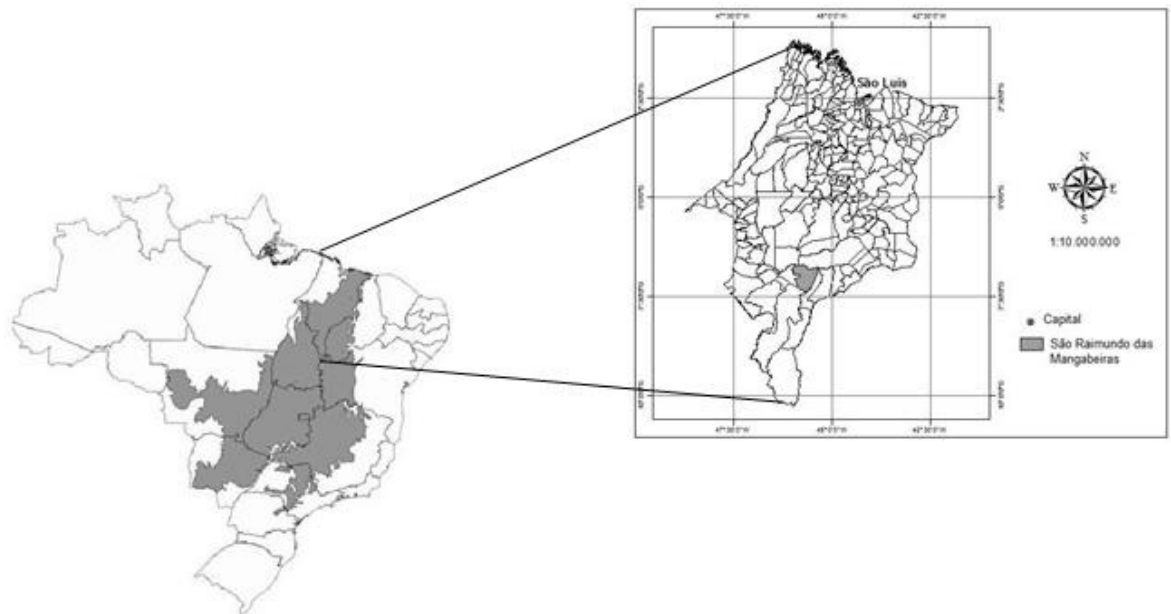


Figure 1. Brazil's map with cerrado (Brazilian savanna) in gray and focus in São Raimundo das Mangabeiras County in Maranhão State where this study was performed. Adapted from www.bndes.gov.br and CPRM (2011).

The climate is sub-humid with annual rainfall of 1,200 to 1,300 mm and temperature ranging from 20.8°C to 32.1°C. There are two well-defined periods: a rainy period, which runs from November to April, with average monthly rainfall of 170 mm, and a dry period in the months of May to October. The vegetation is typical of the cerrado, such as small and medium-sized trees between two and four metres high, with trunks and gnarled branches, thick bark and scattered broadleaf on a grass mat (CPRM, 2011).

2.2. Data Collection

Data collection was carried out between October 2012 and February 2013. Individuals with experience in animal husbandry and medicinal use of natural products were selected for the interviews through non-random sampling (Albuquerque et al., 2008). Forty-eight individuals were interviewed (61.4% female and 38.6% male, ages between 24 and 78 years (48.4 ± 14.4)), representing 47% of the residents of this community. Of these, 40 respondents (83.0%) had livestock on their properties, mainly chickens, goats and cattle. Before answering the questionnaires, all participants were informed about the study objectives. The interviews and application of semi-structured questionnaires only began after explaining the objectives of the study and obtaining verbal consent and a signed informed consent form. Semi-structured questionnaires with open- and closed-ended questions were used, and they gathered data characterizing the interviewed subjects and on their knowledge about diseases, diagnostic procedures and natural treatments for animals.

Species cited as medicinal that were at reproductive stages with flowers and/or fruits were collected for botanical identification. The Angiosperm Phylogeny Group (APGII) system was used for species classification. The scientific names of the species were found in the databases of the Missouri Botanical Garden (MOBOT, available at <http://www.tropicos.org>) and in the List of Species of the Brazilian Flora (available at <http://floradobrasil.jbrj.gov.br>). Identification of the botanical material was performed by comparison with herbarium vouchers and consultation of experts and specialized literature.

2.3. Data Analysis

Use values (UV) were calculated using the formula proposed by Phillips and Gentry (1993). To calculate the UV of one species to an individual interviewee or informant (UV_i), the formula $UV_i = \sum U_{si} / n_i$ was used, where U_{si} is the number of uses described by the informant for the species and n_i is the number of interviews with the informant. In this study, n_i is always 1, as only one interview was conducted per informant. Therefore, the value of UV_i is equal to U_{si} . To calculate the UV of each species, we used the formula $UV_s = \sum UV_{si} / n$, where UV_{si} corresponds to the use-value of one species for an informant and n is the number of informants interviewed. The n value corresponds to the value of n_s reported by Phillips and Gentry (1993), but any species can be cited by any informant, similar to the method used by Vendruscolo and Mentz (2006). Descriptive statistics such as frequency distribution were used to analyse the data, according to methods described by Wondimum et al. (2006). To calculate the informant consensus factor (ICF), the cited species were grouped

into seven categories of medicinal uses based on the diseases reported by the respondents: undefined pain or diseases, antiparasitic and infectious diseases, gastrointestinal disorders, genitourinary system diseases, respiratory diseases, musculoskeletal and connective tissue diseases and injuries, poisonings and other consequences of external causes. The ICF was calculated using the formula $ICF = \frac{nur - nt}{nur - 1}$, where *nur* represents the number of citations in each use category and *nt* represents the number of species cited (Trotter and Logan, 1986; Sharma et al., 2012).

The versatility of medicinal plants was calculated using the index of relative importance (RI). RI is a quantitative measure that demonstrates the importance of a species based on the number of medical properties given by the informants, and it is calculated using the following formula: $RI = NBS + NP$, $NBS = \frac{NBSS}{NBSSV}$, $NP = \frac{NPS}{NPSV}$, where NBS is the number of body systems, determined by a species (NBSS), divided by the total number of body systems treated by the most versatile species (NBSSV); NP is the number of properties assigned to a particular species (NPS), divided by the total number of properties assigned to the most versatile species (NPSV), where 2 is the maximum value obtained for a species (Bennett and Prance, 2000).

The open-ended questions were grouped into classes that expressed similar ideas. Analysis of variance (ANOVA) test was performed, and Student's T-test with 5% probability was used to evaluate significant differences in the means of informant genders and ages.

3. Results

All informants reported using medicinal plants to treat their own diseases and those of their animals. Of the respondents who use plants, the majority (44 / 92.1%) reported that their knowledge has been acquired through family (parents and grandparents) and seniors. 7.9% reported learning about these uses from other relatives, neighbours, books or courses. Literacy was measured as follows: illiterate (32%), incomplete elementary school (39%), complete elementary school (8%), incomplete high school (8%) and completed high school (13%).

There was a significant difference ($p > 0.05$) between the mean numbers of reported plants for men (7.9 ± 1.97) and women (4.42 ± 1.85) as well as significant differences ($p < 0.05$) in the numbers of reported plants between the age classes studied. In the 41 to 60-year-old class, the number of reported plants (5.74 ± 4.32) was significantly higher than that of the 20 to 40-year-old class (3.11 ± 1.67) and the over 60-year-old class (4.93 ± 1.98).

Of the respondents who use plants, 92% (44) reported a preference for their use because they believe that the plants are not harmful to health, and 8% declared that the efficiency

depends on the case; in some situations, only synthetic medicine can treat the problem, while in others, plants can be used effectively and safely as an alternative or primary treatment.

Forty-seven plants were reported for use in ethnoveterinary treatments (Supplementary material). The identified plants were distributed along 45 genera and 26 families. The families with large numbers of reported species were Fabaceae (eleven species), Anacardiaceae (four species) and Malvaceae (three species). The families Apocynaceae, Arecaceae, Cucurbitaceae, Liliaceae and Sapindaceae were represented by two species each, and the rest of the families had only one reported species.

Of the species reported, 33 (70%) were administered for the treatment of more than one disease and/or symptom, whereas 14 (30%) were used for only one purpose (Supplementary material). Six species showed a high RI (greater than 1): *Bowdichia vigilioides* H. B. e K (RI=2.0), *Aloe vera* (RI=1.35), *Dimorphandra gardneriana* Tul. and *Terminalia fagifolia* Mart. & Zucc. (RI= 1.30), *Plathymenia reticulata* Benth. and *Ricinus communis* (RI= 1.10). They were considered highly versatile because they were cited for the treatment of up to five categories of body systems. The RIs of the others species (41) ranged from 0.32 to 0.97. Among the six plant with high RI, three had also high UV, as *B. vigilioides* (UV= 0.56), *D. gardneriana* (UV= 0.23), and *T. fagifolia* (UV= 0.17).

The species with high RIs and UVs also had the highest numbers of medicinal indications. *B. vigilioides* was reported to treat eight different diseases. The plants reported by the informants were indicated for every species of domestic animal present in the studied area, including dogs, cattle, horses, pigs and poultry. All of the reported plants and their indications, methods and parts used for preparing the ethnoveterinary medicines (supplementary material).

Twenty-three ailments were frequently treated by ethnoveterinary means (Table 1). The highest numbers of plant-based remedies by ailments were anthelmintic (17 species), for the treatment of infectious coryza in poultry (12 species) and wound healing (10 species), followed by use for diarrhoea (8 species) and as a repellent against poultry ectoparasites (5 species). Other indications were related to a minor number of species.

The medicinal species and uses were grouped into 7 categories of body systems to calculate ICF. There was agreement on the use of these species among informants with consensus values between 0 and 0.73. Antiparasitic (0.73) and undefined pain categories (0.53) exhibited the highest values. Two categories, namely respiratory disorders and gastrointestinal disorders, had a value of zero. There were two citations of use related to two species and 11 citations of use related to 11 species, respectively (Table 2).

Table 1. Absolute and relative frequencies of medicinal indications of ethnoveterinary medical plants used by inhabitants of a traditional community in the cerrado (Brazilian savanna) in Maranhão, Brazil.

Medical indication	Absolute frequency	Relative frequency (%)
Anthelmintic	17	16
Infectious coryza in poultry	14	14
Wound healing	11	11
Diarrhoea	10	10
Parturition problems	6	6
Fever	5	5
Poultry ectoparasite repellent	5	5
Intoxication	5	5
Anti-inflammatory	5	5
Snake bite	4	5
Fracture	3	3
Weakness	3	3
Flea infestation	2	2
Myiasis	2	2
Purgative	2	2
Leguminous bloat	2	2
Tick infestation	1	1
Fly repellent	1	1
<i>Habronema</i> sp	1	1
Poultry coccidiosis	1	1
Respiratory problems	1	1
Cough	1	1
Umbilical healing	1	1

Table 2. Medicinal use categories and informant consensus factors (ICFs).

Medicinal use categories	Species	Number of citations	ICF
Undefined pain or diseases	10	20	0.53
Antiparasitic and infectious diseases	22	79	0.73
Gastrointestinal disorders	11	11	0.00
Genitourinary system diseases	6	8	0.29
Respiratory disorders	2	2	0.00
Musculoskeletal and connective tissue diseases	3	4	0.33
External causes	11	14	0.23

The plant parts that were more frequently used to prepare ethnoveterinary medicines were the barks (40%), leaves (31%), fruits (9%), whole plants (9%), seeds (6%), and roots (4.5%). Most preparations (95.6%) used only a single plant, but in 4.1% of cases, multiple different medicinal plants were used to prepare the herbal medicine. Doses were not standardized, and treatment duration was the time period until the interviewees observed improvement of the animal. The most common method of use was maceration (27%), followed by water infusion (24%), plaster (12%) and tea (8%); other preparation methods were less commonly reported. Oral administration was reported as the main method of administration, and baths and plasters are the main methods of topical administration. The latter is used to treat skin problems, wounds and tick infestation; it is also used as a flea and fly repellent.

Beyond plants, some informants reported the use of products of animal origin for ethnoveterinary treatments. In the studied population, domestic animals have therapeutic uses, such as the lard of chickens (*Gallus Gallus*) and urine of cows (*Bos taurus*). The use of chemical products such bleach, gasoline and oil were also reported for treatments.

4. Discussion

The cerrado or Brazilian savanna is one of the most taxonomically diverse biomes (Gottlieb and Borin, 1994). As such, the cerrado is an important region in which to research medicinal plants. However, only one ethnoveterinary study has been conducted in this biome, 1,400 km south of where this study took place, and that previous study found differences in plant diversity and culture. Our results show that the studied population retains ethnoveterinary knowledge that has been orally transmitted over generations. This was expected because oral transmission is the primary way by which knowledge is transmitted, as previously reported in other regions of Brazil (Barboza et al., 2007; Monteiro et al., 2011) and other parts of the world (Alawa et al., 2002; Farooq et al., 2008; Giday et al., 2009). Thus, older people who have such knowledge tell others about the plants that can be used and the correct ways to prepare them. This knowledge, together with myths and rituals, forms an important part of local cultures (Arnous et al., 2005; Taufner, 2014). However, the dissemination of knowledge of medicinal plants in the community is necessary not only for cultural reasons (i.e. to continue the heritage) but also due to the necessity and difficulty of finding remedies for

both human and animal use. The residents reported living without medical and veterinary resources.

Moreover, the studied community demonstrated more trust in ethnoveterinary medicine than in veterinary allopathic medicine due to easy acquisition and proven effectiveness of some native plants. The low purchasing power and lack of veterinary services are also factors that contribute to people choosing ethnoveterinary medicine.

It was also not unexpected that these reports were more common among people over age 40, as the use of medicinal plants is an ancient practice, and the older generation retains more information about the practice (Puri and Nair, 2004, Alves et al., 2008; Araujo et al., 2009; Monteiro et al., 2011). The number of adult participants who were illiterate or have not completed primary education is very high. These data confirm that knowledge and use of medicinal plants is influenced by the level of education of the participant, and this is more common in those who received little or no formal education (Kffuri, 2008; Casari and Tormen, 2011). Although fewer in number, male participants reported a larger number of plants than females, indicating increased knowledge of plant usage. This may be attributed to the division of labour; women are responsible for housekeeping, while men take care of the animals (Farooq et al., 2008; Giday et al., 2009). Men tend to use this knowledge to make their family business more profitable. Women know about plants that are used to meet the needs of the family (Pastore et al., 2009). This explains why women cited more plants to treat diseases in chickens, as these tend to be housed near the family residence. However, some ethnobotanical studies did not show differences between genders (Viu et al., 2010; Monteiro et al., 2011; Viu and Viu, 2011).

Species belonging to the family Fabaceae were the most frequently cited in this study. This family has the largest number of species throughout the cerrado, which may explain its high representation in ethnobotanical studies (Mendonça et al., 1998).

The UV is a quantitative measure of the relative importance of species and/or plant families for a population (Vendruscolo and Mentz, 2006). The species with higher UV were more frequently cited for the treatment of diseases. Although this finding reinforces the idea that these species are the most important for the population studied, one of the most common approaches has been to associate the UV with questions of conservation, based on the idea that the most important species will suffer the greatest

harvesting pressure. However, no studies have proven a direct relationship between the UV and the pressure of resource utilization (Albuquerque et al, 2006).

Three species recorded in this study showed potential for possessing bioactive substances: *B. virgilioides*, *D. gardneriana* and *T. fagifolia*. These species warrant further in-depth study on the basis of their UV, versatility and ICF. *B. virgilioides* had the highest UV and RI. This species has also been noted in other studies as being highly versatile (Almeida and Albuquerque, 2002; Cartaxo et al., 2010; Souza et al, 2014), but with values lower than those found in this study.

The present study showed that antiparasitic (0.73) and undefined pain categories (0.53) exhibited the highest ICF values. Similar results were found in studies conducted by Ritter et al. (2012). When the selection criteria are well defined, and the usage information is shared among informants, high ICF values (close to one) are obtained. However, when there is no agreement regarding the use of any type in respect of categories, the ICF are low (near zero). This may occur if the plants are randomly chosen or if the informants do not exchange information about their use (Sharma et al., 2012).

The most popular indications treated by medicinal plants were diarrhoea, skin lesions, worms, wound healing and other minor illnesses. These types of illnesses and clinical signs are common in domestic animals and are more easily identified by the interviewees, which may explain why these categories exhibited more citations. In most ethnoveterinary surveys, the main uses of medicinal plants are for the treatment of less severe diseases/injuries (Alawa et al., 2002; Tabuti et al., 2003a; Monteiro et al, 2011; Ritter et al, 2012). The use of medicinal plants was also reported in treatment of snakebites and infectious coryza in poultry (Table 1), as indicated in other ethnobotanical studies (Gradé et al., 2009; McGaw and Eloff, 2008; Viegí et al., 2003).

In the present study we found new uses for species *Myracrodruon urundeuva* Fr. Al, *Mangifera indica* L., *D. gardneriana* Tul., *Hymenaea courbaril* L., *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne, *Anadenanthera falcata* Benth, *Sterculia striata* St. Hil. et Naud, *Capsicum frutescens* L. indicated for the treatment of infectious coryza in chickens and *Cocos nucifera* L. and *Petiveria alliacea* L. as repellent to poultry ectoparasites. *R. communis*, *Caryocar brasiliensis* Camb. and *Talisia esculenta* L. were recommended to parturition problems and *Mauritia flexuosa* L., *Citrus limon* (L.) Burm. F. were indicated to bloat. The specie *Magonia pubescens* St. Hil was used to treat

myiasis and *Hancornia speciosa* Gomez to treat "swamp cancer". Some species had two new uses described *Curatella americana* L. for infectious coryza and as repellent to ectoparasites of poultry; *P. reticulate* was used to treat myiasis and umbilical healing; *S. striata* used to treat coryza infectious and snake bite and *B. vigilioides* species with the highest number of new recommendations of use for infectious coryza of chickens, poultry coccidiosis, calving problems.

Most ethnoveterinary preparations in the present study use just one medicinal plant. The use of two or more plants simultaneously suggests synergy, where an association of plants might result in increased therapeutic efficacy (Giday et al., 2007). Informants did not report standardized dosing, method of use or treatment duration. This finding was also observed in other ethnoveterinary surveys (Tabuti et al., 2003a; Farooq et al., 2008; Hussain et al., 2008; Giday et al., 2009; Monteiro et al., 2011; Ritter et al., 2012).

Bark was the most frequently reported plant part used as veterinary medicine. The frequent use of bark is due to its availability throughout the year and its stability, which allows it to be stored for a long period without loss of therapeutic effect (Lucena et al., 2008; Mosca and Loiola, 2009; Silva et al., 2009; Cartaxo et al., 2010; Marinho et al., 2011; Albuquerque et al., 2012; Saraiva et al., 2015).

5. Conclusion

The local people have access to and knowledge of a wide variety of medicinal plants that can be used to treat different diseases that affect animals. This knowledge of medicinal plant use needs to be conserved, and further work is needed to incorporate this traditional knowledge into existing livestock healthcare services.

Conflicts of Interest

The authors declare that they have no conflicts of interest.

Acknowledgements

The authors wish to thank The Brazilian National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) for awarding a fellowship to L.M. Costa-Júnior, and the Brazilian Federal Agency for support and evaluation of graduate education (CAPES) for a scholarship to A.F. Oliveira. We also thank the Maranhão State Research Foundation (FAPEMA) for financial support.

Appendix A. Supplementary material

Supplementary data associated with this article can be found in the online version at

Author Contributions

Conceived and designed the experiments: A.F. Oliveira and L.M. Costa-Júnior. Performed the experiments: A.F. Oliveira, S.F.F. Sousa, C.R.G. Silva, I.P. Privado, C.A.S. Ciriaco. Analyzed the data and wrote the paper: A.F. Oliveira and L.M. Costa-Júnior.

References

- Aguiar, L. M. S., Camargo, A. J. A., 2004. Cerrado: ecologia e caracterização. Embrapa Informação Tecnológica, Planaltina, 249p.
- Alawa, J.P. et al., 2002. Ethnoveterinary medical practice for ruminants in the subhumid zone of northern Nigéria. *Preventive Veterinary Medicine*, 54,79-90.
- Albuquerque, U. P. et al., 2006. Evaluating two quantitative ethnobotanical techniques. *Ethn Res & Appl.*, 4, 51-60.
- Albuquerque, U.P. et al., 2008. Métodos e técnicas na pesquisa etnobotânica. Recife, Comunigraf. 2008, 324 p.
- Albuquerque, U.P. et al., 2012. New strategies for drug discovery in tropical forests based on ethnobotanical and chemical ecological studies. *Journal of Ethnopharmacology*, 140, 197–201.
- Almeida, C. F. C. B., Albuquerque, U. P., 2002. Uso e conservação de plantas e animais medicinais no estado de Pernambuco: um estudo de caso no Agreste. *Interciência*, 26 (6), 276-285.

Alves, R. R. N. et al., 2008. Aspectos socioeconômicos do comércio de plantas e animais medicinais em áreas metropolitanas do Norte e Nordeste do Brasil. *Revista de Biologia e Ciências da Terra*, 8, 181-189.

Araujo, A. C. et al., 2009. Caracterização socio-econômico cultural de raizeiros e procedimentos pós-colheita de plantas medicinais comercializadas em Maceió, AL. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 11(1), 81-91.

Arnous, A.H. et al., 2005. Plantas medicinais de uso caseiro - conhecimento popular e interesse por cultivo comunitário. *Revista Espaço para a Saúde*, 6 (2), 1-6.

Barbosa, A.S., Schimiz, P.I., 1998. Ocupação indígena do cerrado: o esboço de uma história, in: Sano, S. M., Almeida, S. P. (Eds.). *Cerrado: ambiente e flora*. Embrapa Cerrados, Planaltina, pp. 287-556.

Barboza, R.R.D. et al., 2007. The use of zootherapeutics in folk veterinary medicine in the district of Cubati, Paraíba State, Brazil,. *J. Ethnobiol. Ethnomed.* 3(32), 1-14.

Bartha, S. et al., 2015. Ethnoveterinary practices of Covasna County, Transylvania, Romania,. *J. Ethnobiol. Ethnomed.* 11(35), 1-22.

Bennett, B. C., Prance, G. T., 2000 Introduced plants in the indigenous pharmacopoeia of Northern South America. *Economic Botany*, 54, 90–102.

Cárceles, A. et al., 2004. La etnoveterinária como um instrumento para la atención integral de la producción pecuária, in: XIII Congreso Italo-Latino Americano Do Etnomedicina, Facolta'di Farmacia,, Roma, p. 6-8.

Casari, P., Tormen, P., 2011. Atividade leiteira, agricultura familiar e desenvolvimento regional: estudo de caso da Linha Tormem, Chapecó/SC, *Revista Estudos do CEPE*, 34, 139-171.

Cartaxo, S. L. et al., 2010. Medicinal plants with bioprospecting potential used in semi-arid northeastern Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*, 131, 326-342.

CPRM. Relatório diagnóstico do município de São Raimundo das Mangabeiras. webserver1.cprm.gov.br/rehi/atlas/...mangabeiras/Rel_Diagnostico.pdf (accessed 20.02.16)

Domingo, I. V. Plantas medicinais para o tratamento de animais, 2005. <http://tilz.tearfund.org/> (accessed 12.01.2015).

Eiten, G., 1994. Vegetação do Cerrado, in: Pinto, M. N. (coord.). *Cerrado: caracterização, ocupação e perspectivas*. UnB/Sematec, Brasília, pp. 09-65.

Farooq, Z. et al., 2008. Ethnoveterinary practices for the treatment of parasitic diseases in livestock in Cholistan desert (Pakistan), *Journal of Ethnopharmacology*, 118, 213-219.

- Giday, M. et al., 2007. Medicinal plants of the Shinasha, Agew-awi and Amhara peoples in northwest Ethiopia. *Journal of Ethnopharmacology*, 110, 516–25.
- Giday, M. et al., 2009. Medicinal plants of the Meinit ethnic group of Ethiopia: An ethnobotanical study. *Journal of Ethnopharmacology*, 124, 513-521.
- Gottlieb, O. R., Borin, M. R. M. B., 1994. The diversity of plants. Where is it? Why is it there? What will it become? *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 66, 205-210.
- Gradé, J. T. et al., 2009. Ethnoveterinary knowledge in pastoral Karamoja, Uganda. *Journal of Ethnopharmacology*, 122, 273-293.
- Guarim Neto, G. et al. , 2008. Flora, vegetação e etnobotânica: conservação de recursos vegetais no Pantanal. *Gaia Scientia*, 2(2), 41-46.
- Hussain, A. et al., 2008. An account of the botanical anthelmintics used in traditional veterinary practices in Sahiwal district of Punjab, Pakistan. *Journal of Ethnopharmacology*, 119, 185-190.
- Kffuri, C.W., 2008. Etnobotânica de plantas medicinais no município de Senador Firmino, Minas Gerais. (MsC em Fitotecnia). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa (88 pp.).
- Lucena, R. F. P. et al., 2008. Local uses of native plants in na area of Caatinga vegetation (Pernambuco, NE Brazil). *Ethnobotany Research & Applications*, 6, 3-13.
- Marinho, M. G. V. et al., 2011. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais em área de caatinga no município de São José de Espinharas, Paraíba, Brasil. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 13 (2), 170-182.
- McGaw, L.J., Eloff, J.N., 2008. Ethnoveterinary use of southern African plants and scientific evaluation of their medicinal properties. *Journal of Ethnopharmacology* 119, 559-574.
- Mendonça, R. C. et al., 1998. Flora Vascular do Cerrado, in: Sano, S. M., Almeida, S. P. (Eds.). *Cerrado: ambiente e flora*. Embrapa Cerrados, Planaltina, pp. 289-556.
- Monteiro, M. V. B et al., 2011. Ethnoveterinary knowledge of the inhabitants of Marajó Island, Eastern Amazonia, Brazil. *Acta Amazonica*, 41 (2), 233 – 242.
- Mosca, V. P., Loiola, M. I. B., 2009. Uso popular de plantas medicinais no Rio Grande do Norte, nordeste do Brasil. *Revista Caatinga*, 22 (4), 225-234.
- Pastore, E. et al., 2009. O papel da mulher na agricultura diversificada e agroecológica: influências e mudanças nas relações de gênero. http://www.fazendogenero7.ufsc.br/artigos/P/Pastore-Polese-Pastore_37.pdf (accessed 20.06.15).
- Phillips, O., Gentry, A. H., 1993. The useful plants of Tambopata, Peru: I. Statistical Hypotheses tests with a new quantitative technique. *Economic Botany*, 47, 15–32.

- Puri, S., Nair, P. K. R., 2004. Agroforestry research for development in Índia: 25 years of experiences of a national program. *Agroforestry Systems*, 61, 437- 52.
- Ribeiro, J. F., Walter, B. M. T., 1998. Fitofisionomias do bioma cerrado, in: Sano, S. M., Almeida, S. P. (Eds.). *Cerrado: ambiente e flora*. Embrapa Cerrados, Planaltina, pp. 89-166.
- Ritter, R. A. et al., 2012. Ethnoveterinary knowledge and practices at Colares island, Pará state, eastern Amazon, Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*, 144, 346–352.
- Saraiva, M. E. et al., 2015. Plant species as a therapeutic resource in areas of the savanna in the state of Pernambuco, Northeast Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*, 171, 141–153.
- Sharma, R. et al., 2012. Ethnoveterinary remedies of disease among milk yielding animals in Kathua, Jammu and Kashmir, India. *Journal of Ethnopharmacology*, 141, 265–272.
- Simoni, I. C. Plantas com poder curativo na saúde animal, 2011. *Inst. Biol.*, 155, http://www.biologico.sp.gov.br/artigos_ok.php?id_artigo=155 (accessed 05.01.15).
- Silva, F. et al., 2014. An ethnopharmacological assessment of the use of plants against parasitic diseases in humans and animals. *Journal of Ethnopharmacology*, 155, 1332–1341.
- Silva, M.D. et al., 2009. Estudo etnobotânico de plantas medicinais utilizadas pela população rural no entorno do Parque Nacional da Serra do Itajaí – Indaial. *Revista Saúde e Ambiente*, 10 (2), 54-64.
- Souza, R.K.D. et al., 2014. Ethnopharmacology of medicinal plants of Carrasco, northeastern Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*, 157, 99–104.
- Tabuti, J. R. S., 2003. Ethnoveterinary medicines for cattle (*Bos indicus*) in Bulamogi county, Uganda: plant species and mode of use. *Journal of Ethnopharmacology*, 88, 279-286.
- Taufner, C. F. et al., 2014. Uso de plantas medicinais como alternativa fitoterápica nas unidades, de saúde pública de Santa Teresa e Marilândia, ES. *Natureza on line*, 4 (1), 30-39.
- Troter, R., Logan, M., 1986. Informant consensus: a new approach for identifying potentially effective medicinal plants, in: Etkin, N. L. (Ed.). *Indigenous Medicine and Diet: Biobehavioural Approaches*. Redgrave Bedford Hills, NewYork, pp. 91–112.
- Vendruscolo, G.S., Mentz, L.A., 2006. Estudo da concordância das citações de uso e importância das espécies e famílias utilizadas como medicinais pela comunidade do bairro Ponta Grossa, Porto Alegre, RS, Brasil. *Acta Botanica Brasilica*, 2, 367–382.
- Viegi, L. et al., 2003. A review of plants used in folk veterinary medicine in Italy as basis for a databank. *Journal of Ethnopharmacology*, 89, 221-44.

Viu, A. F. M., Viu, M. A. O., 2011. Cerrado e etnoveterinária: o que se sabe em Jataí - GO?. Revista Brasileira De Agroecologia, 6 (3), 49-61.

Viu, A. F. M. et al., 2010. Etnobotânica: uma questão de gênero?, Revista Brasileira de Agroecologia, 5(1),138- 147.

Wondimu, T et al. , 2006.Ethnobotanical study of food plants around 'Dheeraa' town, Arsi, Ethiopia. Ethiop. J. Sci., 29(1),71–80.

WWF; PROCER, 1995. De grão em grão, o Cerrado perde espaço. Cerrado – Impactos do processo de ocupação. WWF, Brasília. 66p.

Table 3. Supplementary material 1. Plant species used to treat animals by inhabitants of a traditional community in the cerrado (Brazilian savanna) in Maranhão, Brazil, medical indications, plant parts used and method of use.

Family/ Scientific name	Local name	UVis	UVs	RI	Medicinal indication	Part Used	Mode of use
Anacardiaceae							
<i>Myracrodruom urundeuva</i> Fr. Al	Aroeira	10	0.21	0.775	- Anthelmintic - Infectious coryza in poultry - Fever	B B	Maceration in water Maceration in water
<i>Anarcadium occidentale</i> L.	Caju	3	0.06	0.325	- Diarrhoea	B	Maceration in alcohol
<i>Spondias lutea</i> L.	Cajá	1	0.02	0.325	- Weakness	L	Maceration in water
<i>Mangifera indica</i> L.	Manga	2	0.02	0.650	- Infectious coryza in poultry - Diarrhoea	B	Maceration in water
Annonaceae							
<i>Annona</i> sp.	Ata	1	0.02	0.325	- Snake bite	L	Juice
Apocynaceae							
<i>Hancornia speciosa</i> Gomez	Mangabeira	5	0.10	0.775	- Wound healing - Anthelmintic - <i>Habronema</i> sp.	L B B	Maceration in water Tea Tea
<i>Himatanthus obovatus</i> M. Arg.	pau-de-leite	4	0.08	0.650	- Weakness - Anthelmintic	B B	Maceration in water Infusion in

								water and Milk in the water
Areceaceae								
<i>Mauritia flexuosa</i> L.	Buriti	3	0.06	0.775	- Snake bite - Wound healing - Leguminous bloat	Fr		Oil pure Oil pure Applied topically Oil pure
<i>Cocos nucifera</i> L.	Coco	2	0.04	0.650	- Diarrhoea - Repellent against poultry ectoparasites	Fr L		Tea Put in bird's nest
Bignoniaceae								
<i>Tabebuia caraiba</i> Mart	Craíba	2	0.04	0.650	- Wound healing - Fracture	S/L/B		Plaster
Bixaceae								
<i>Bixa orellana</i> L.	Urucum	2	0.04	0.650	- Wound healing - Fracture	S/L/B		Plaster
Caryocaraceae								
<i>Caryocar brasiliensis</i> Camb.	Pequi	11	0.23	0.775	- Parturition problems - Wound healing - Intoxication	L L L		Infusion in water Plaster Infusion in water
Chenopodiaceae								
<i>Chenopodium</i>	Mastruz	2	0.04	0.975	- Wound healing	L		Plaster

ambrosioides L.

- Fracture
- Anthelmintic

L
L

Plaster
Infusion in
water

Combretaceae

Terminalia fagifolia
Mart. & Zucc

catinga de porco

8

0.17

1.300

- Anthelmintic
- Diarrhoea
- Wound healing
- Anti-inflammatory

B
B
B
B

Infusion in
water
Maceration in
water
Plaster
Plaster

Convolvulaceae

Operculina
macrocarpa L

batata de purga

5

0.10

0.325

- Anthelmintic

R

Powder in
food

Cucurbitaceae

Momordica
charantia L.

melão são
caetano

1

0.02

0.450

- Flea infestation in dogs
- Anthelmintic

L, Fr
L, Fr

Juice
Juice

Curcubita moschata
(Duch)

Abobora

1

0.02

0.325

- Anthelmintic

S

Powder in
food

Dilleniaceae

Curatella americana
L.

Sambaíba

5

0.10

0.450

- Infectious coryza in poultry
- Repellent against poultry
ectoparasites

L
L

Maceration in
water
Put in bird's
nest

Euphorbiaceae

Ricinus communis L.

Mamona

3

0.06

1.100

- Parturition problems
- Tick infestation and fly repellent

Fr
S

Infusion in
water

					- Intoxication	L	Seeds burnt to create a smoke Infusion in water
Fabaceae							
<i>Bowdichia</i>	Sucupira	27	0.56	2.000	- Parturition problems	B	Infusion in water
<i>vigilioides</i> H. B. & K					- Fever	B	Infusion in water
					- Infectious coryza in poultry	B	Infusion in water
					- Intoxication	B	Infusion in water
					- Poultry coccidiosis	B	Infusion in water
					- Anthelmintic	B	Infusion in water
					- Weakness	B	Infusion in water
					- Cough	B	Infusion in water
							Maceration in water
							Powder in the salt
							Maceration in water
<i>Stryphnodendron coriaceum</i> Benth	Barbatimão	3	0.06	0.325	- Wound healing	B	Maceration in water
<i>Dimorphandra gardneriana</i> Tul.	fava-danta	11	0.23	1.300	- Infectious coryza in poultry	B	Maceration in water
					- Diarrhoea	B	Infusion in water
					- Anti-inflammatory	B	Infusion in water
					- Intoxication	B	Maceration in water

							water Infusion in water
<i>Plathymenia reticulate</i> Benth	Candeia	4	0.08	1.100	- Wound healing - Myiasis - Umbilical healing - Diarrhoea	B B B B	Maceration in water Maceration in water Maceration in water Maceration in alcohol
<i>Hymenaea courbaril</i> <i>L.</i>	Jatobá	5	0.10	0.450	- Infectious coryza in poultry - Anthelmintic	L B	Juice Maceration in water
<i>Parkia platycephala</i> Benth.	fava de bolota	1	0.02	0.325	- Diarrhoea	S	Powder in the food
<i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.	podoio/copaiba	3	0.06	0.625	- Fever - Infectious coryza in poultry	B B	Tea Maceration in water
<i>Hymenaea stigonocarpa</i> Mart.	jatobá de vaqueiro	1	0.02	0.325	- Infectious coryza in poultry	B	Maceration in water
<i>Bauhinia cheilantha</i> (Bong)	cipó de escada	1	0.02	0.325	- Diarrhoea	WP	Maceration in water
<i>Anadenanthera</i>	Angico	16	0.33	0.575	- Anthelmintic	B	Maceration in

<i>falcata</i> Benth					- Infectious coryza in poultry - Anti-inflammatory	B B	water Maceration in water Maceration in water
<i>Leucaena leucocephala</i> (Lam.)	Leucena	2	0.04	0.325	- Purgative	L	Maceration in water
Lamiaceae <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Alecrim	1	0.02	0.325	- Fever	L	Tea
Liliaceae <i>Aloe vera</i> L. Burm.f.	Babosa	5	0.10	1.350	- Anthelmintic - Infectious coryza in poultry - Flea infestation in dogs - Snake bite - Wound healing - Anti-inflammatory	L WP WP WP WP WP	Infusion in water water Infusion in water water Maceration in water Plaster Plaster Plaster
<i>Allium sativum</i> L.	Alho	5	0.10	0.775	- Anthelmintic - Infectious coryza in poultry - Respiratory problems	R R R	Infusion in water water Infusion in water Infusion in water

Malvaceae

<i>Gossypium herbaceum</i> L.	Algodão	3	0.06	0.650	- Purgative - Parturition problems	L L	Juice Juice
<i>Abelmoschus esculentus</i> (L.) Moench.	Quiabo	1	0.02	0.325	- Anthelmintic	S	Powder in food Milk give orally
<i>Sterculia striata</i> St. Hil. et Naud	Xixá	2	0.04	0.775	- Anthelmintic - Infectious coryza in poultry - Snake bite	B B	Infusion in water Maceration in water
Meliaceae							
<i>Cedrela odorata</i> L.	Cedro	12	0.25	0.650	- Repellent against poultry ectoparasites - Fever	L	Put in bird's nest
Myrtaceae							
<i>Psidium guajava</i> L.	Goiaba	1	0.02	0.650	- Diarrhoea - Anthelmintic	L	Juice
Passifloraceae							
<i>Turnera ulmifolia</i> L.	Chanana	1	0.02	0.650	- Anthelmintic - Anti-inflammatory	R	Tea or maceration in water
Phytolacaceae							
<i>Petiveria alliacea</i> L.	Tipi	1	0.02	0.325	- Repellent against poultry ectoparasites	L	Put in bird's nest

Rutaceae							
<i>Citrus limon</i> (L.) Burm. F.	Limão	5	0.10	0.775	- Anthelmintic - Infectious coryza in poultry - Leguminous bloat	Fr Fr Fr	Infusion in water Maceration in water Infusion in water
Sapindaceae							
<i>Magonia pubescens</i> ST.Hil	Tingui	3	0.06	0.650	- Wound healing - Myiasis	B	Infusion in water
<i>Talisia esculenta</i> L.	Pitomba	2	0.04	0.325	- Parturition problems	L	Infusion in water
Siparunaceae							
<i>Siparuna guianensis</i> Aubl.	Negramina	7	0.15	0.325	- Repellent against poultry ectoparasites	L	Put in bird's nest
Sterculiaceae							
<i>Guazuma ulmifolia</i> Lam	Mutamba	6	0.12	0.650	- Parturition problems - Intoxication	L L	Maceration in water Maceration in water
Solanaceae							
<i>Capsicum frutescens</i> L.	pimenta-malagueta	1	0.02	0.325	- Infectious coryza in poultry	Fr	Powder in the food
Vochysiaceae							
<i>Qualea grandiflora</i> Mart.	pau de terra	1	0.02	0.325	- Diarrhoea	B	Infusion in water

L - Leaves, B - Bark, Fr - Fruit, S - Seed, R - Roots, WP - Whole plant; Uvis: use value of the species for a single informant; Uvs: total use value of the species for all informants; RI: Relative Importance

5. CAPÍTULO 2

Atividade antihelmíntica de extratos de plantas do Cerrado Brasileiro

Anthelmintic activity of plant extracts from Brazilian savanna

RESUMO

As helmintoses representam um grave problema à produção de pequenos ruminantes, atualmente agravado pela resistência aos produtos anti-helmínticos, o que vem estimulando a busca por novas formas de controle, dentre elas os produtos naturais. A escolha das espécies vegetais com potencial farmacêutico pode ser realizada por diferentes tipos de abordagens, destacando-se etnoveterinária e a etológica. No presente estudo, extratos das espécies vegetais *Turnera ulmifolia* L. (folhas e raízes), *Parkia platycephala* Benth. (folhas e sementes) e *Dimorphandra gardneriana* Tul. (folhas e cascas), citadas em estudo etnoveterinário, e selecionadas naturalmente por caprinos no Cerrado maranhense, foram testadas *in vitro* para atividade contra *Haemonchus contortus*. Foram preparados extratos acetônico (EA) e hidroalcóolico (EHA) e realizados o teste de eclosão de ovos (TEO), teste de desembainhamento larvar artificial (TDLA) e teste de desenvolvimento larvar (TDL) de *Haemonchus contortus*. Um segundo conjunto de incubações foi realizado utilizando polivinilpirrolidona (PVPP) para realização do TEO e TDLA, a fim de observar a influência de polifenóis no possível efeito anti-helmíntico. Os dados de cada extrato foram usados para calcular a concentração letal média (CL₅₀) para cada teste. Todos os extratos demonstraram atividade anti-helmíntica contra pelo menos um estágio de vida do *Haemonchus contortus*. O uso de PVPP revelou que os taninos condensados não são os únicos metabólitos secundários dos extratos responsáveis pelos efeitos anti-helmínticos. Os resultados mostram que os extratos selecionados apresentaram efeito anti-helmíntico e que o uso dos critérios etnoveterinário e etológico se mostram promissores na busca de potenciais substâncias terapêuticas.

Palavras-chave: Nematóides gastrointestinais; Extratos vegetais; etnoveterinária, forrageamento; Pequenos ruminantes.

Artigo Publicado: Veterinary Parasitology

Anthelmintic activity of plant extracts from Brazilian savanna

Andreia F. Oliveira¹, Livio M. Costa Junior^{1*}, Aldilene S. Lima¹, Carolina R. Silva¹, Maria N. S. Ribeiro², José W. C. de Mesquita², Cláudia Q. Rocha³, Marcelo M. P. Tangerina⁴, Wagner Vilegas⁴

¹ Universidade Federal do Maranhão, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, CEP 65080-805, São Luís, Maranhão, Brazil.

² Universidade Federal do Maranhão, Departamento de Farmácia, CEP 65080-805, São Luís, Maranhão, Brazil

³ Universidade Federal do Maranhão, Departamento de Química, CEP 65080-805, São Luís, Maranhão, Brazil.

⁴ UNESP - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Campus do Litoral Paulista, CEP 11330-900, São Vicente, SP, Brazil

*Corresponding author

Tel.: +55 98 32729547

E-mail address: livio.martins@ufma.br; livioslz@yahoo.com

Abstract

Helminth infections represent a serious problem for the production of small ruminants that is currently aggravated by resistance to anthelmintic products and has induced a search for control alternatives, such as natural products. The selection of plant species with pharmaceutical potential can be achieved using different approaches, highlighting ethnoveterinary and ethological studies. In this study, extracts of *Turnera ulmifolia* L. (leaves and roots), *Parkia platycephala* Benth. (leaves and seeds) and *Dimorphandra gardneriana* Tul. (leaves and bark), which have been cited in ethnoveterinary studies and selected naturally by goats in the cerrado (Brazilian savanna), were tested *in vitro* against *Haemonchus contortus*. Hydroacetonic (ACT) and hydroalcoholic (ETH) extracts were evaluated using an Egg Hatching Assay (EHA), a Larval Exsheathment Inhibition Assay (LEIA) and a Larval Development Assay (LDA). A second set of incubations was performed using polyvinylpyrrolidone (PVPP) to determine the influence of polyphenols on the anthelmintic effects of EHA and LEIA. Data from each extract were used to calculate inhibition concentrations (IC₅₀). All tested extracts showed activity against at least one life stage of *H. contortus*. The use of PVPP revealed that the tannins are not the only extracts of secondary metabolites responsible for the anthelmintic effects. The results show that the selected extracts showed anthelmintic effects and that the use of ethnoveterinary and ethological criteria shows promise in the search for potential therapeutic substances.

1. Introduction

Gastrointestinal nematodes in ruminants are one of the most important causes of animal diseases worldwide, mainly in temperate and tropical areas (Miller et al., 2012; Hoste et al., 2015). The increasing nematode resistance to commercially available drugs, besides the release of residues from these drugs in the environment and in foods of animal origin (Salgado and Santos, 2016), which may affect consumer health, has encouraged studies to develop alternative methods for control. In this context, medicinal plants and their secondary metabolites (PSMs) may be an effective alternative for parasite control (Rochfort et al., 2008; Hoste and Torres-Acosta, 2011). The PSMs could be either used as phytotherapeutic material or fed as nutraceuticals (Hoste et al., 2015). To identify anthelmintic activities in plants, different strategies can be proposed as ethnoveterinary and ethological studies (Huffman, 2003; Diehl et al., 2004). Roots of *Turneria ulmifolia* L, used as anthelmintic in small ruminants and seed of *Parkia platycephala* Benth and bark of *Dimorphandra gardneriana* Tul. are used to treat diarrhoea in ruminants by farmers in Brazil (Oliveira et al., unpublished results). These plants are naturally consumed by goats in Brazilian savanna, and for these reasons are plants with potential anthelmintic activity. The objective of this study was to evaluate the anthelmintic (AH) actions in vitro of *T. ulmifolia*, *P. platycephala* and *D. gardneriana* extracts which have been cited in ethnoveterinary studies and selected naturally by goats in the Brazilian savanna.

2. Material and methods

2.1. Plant material and extracts preparation

Parts of the *T. ulmifolia* (leaves and roots), *P. platycephala* (leaves and seeds) and *D. gardneriana* (leaves and bark) were collected, identified by the botanist from University of

Maranhão State, Brazil and a voucher specimen was deposited at the Herbarium of this institute under numbers 035, 032 and 010, respectively. These plants were dried at 40°C for 72 h and pulverized in an electric mill. For the acetone extract (ACT), 500 g of material from each plant was extracted with acetone–water (70:30) and sonicated for 20 min in water-bath. The acetone was evaporated, the extract was washed four times with dichloromethane to remove lipids and pigments, and the solvent was evaporated and kept at 4°C until its use in the *in vitro* assay (Alonso-Díaz et al., 2008). For the ethanolic extract (ETH), fifty grams of material from each plant was extracted in 500 mL of ethanol–water (80:20) and was kept for seven days stored at 4°C in an amber vial, with periodic agitation of the contents. The solvent was evaporated using a rotary evaporator, the extract was washed four times with dichloromethane, and the solvent was again evaporated using a rotary evaporator and kept at 4°C until its use in the *in vitro* assay.

2.2. Chemical analysis

Phytochemical screening tests that detect the presence of different secondary metabolites were performed using all extracts as described by Matos (2009). These tests involved visual observation of color modification or formation of precipitates after the addition of specific reagents. Direct flow infusion of the samples was performed on a ThermoScientific LTQ XL linear ion trap analyzer equipped with an electro-spray ionization (ESI) source, in negative mode (Thermo, San Jose, CA, USA). It was used a stainless-steel capillary tube at 280°C, spray voltage of 5.00 kV, capillary voltage of –90 V, tube lens of –100 V and a 5 µL/min flow. Full scan analysis was recorded in *m/z* range from 100 to 1000. Multiple-stage fragmentations (ESI-MSⁿ) were performed using the collision-induced dissociation (CID) method against helium for ion activation. The first event was a full-scan mass

spectrum to acquire data on ions in that M/Z range. The secondscan event was an MS/MS experiment performed by using a data-dependent scan on the $[M - H]^-$ molecules from the compounds of interest at a collision energy of 30% and an activation time of 30 ms. The product ions were then submitted to further fragmentation in the same conditions, until no more fragments were observed.

2.3. Parasitological procedures

2.3.1. Nematodes

Eggs and third stage larvae (L3) were obtained from a donor goat with a monospecific infection of *Haemonchus contortus* isolated from a naturally infected goat. Experimental procedures were performed in accordance with the guidelines of the Animal Ethics Committee of Maranhão Federal University and were approved by this committee under protocol number 23115018061/2011-11.

2.3.2. Egg Hatching Assay (EHA)

Fresh faeces were collected and washed with warm water (37°C); the eggs were then recovered from solution in 25- μ m sieves. Recovered eggs were added to a saturated NaCl solution and centrifuged (3000 rpm) for 3 min; floating eggs were recovered using a 25- μ m sieve (Coles et al., 1992). Eggs were washed three times to eliminate the remaining salt and were re-suspended in distilled water. A suspension of 100 eggs/well was placed in a plate, and 100 μ L of each treatment (methanol at 2% and the extracts) was added. The extracts were diluted in 2% methanol at concentrations that ranged from 10.0 mg/mL to 0.3 mg/mL, decreasing by halves. Tests were performed with four replicates. The plate was incubated at

27 °C and RH > 80% for 48 h. Larvae and unhatched eggs were counted under an inverted microscope.

2.3.3. Larval Exsheathment Inhibition Assay (LEIA)

This test was performed according to Bahuaud et al. (2006). The extracts were diluted in 2% methanol and evaluated at concentrations that ranged from 1.2 mg/mL to 0.01875 mg/mL, decreasing by halves. The negative control was performed with 2% methanol and PBS (0.1 M phosphate, 0.05 M NaCl, pH 7.2). The L3 larvae were incubated in the different treatments for 3 h at 22 °C. After incubation, the larvae were washed and centrifuged (3000 rpm) three times with PBS. Approximately 1000 larvae/tube were subjected to the artificial exsheathment process by contact with sodium hypochlorite (2.0%, w/v) and sodium chloride (16.5%, w/v). Tests were performed with four replicates. The percentages of larval exsheathment process were monitored at 0-, 20-, 40- and 60-min intervals by observation under an inverted microscope.

2.3.4. Larval Development Assay (LDA)

A larval development assay (LDA) was performed according to Demeler et al. (2010). One hundred eggs were added to wells with distilled water in a total volume of 200 µL and incubated for 24 h at 27 °C to obtain L1 larvae. Nutritive medium (a mixture of yeast extract:Earles's solution:amphotericin B (Sigma A2942, 0.5 mg/mL) at 2:2:1) and 1.5 mg/mL of autoclaved *Escherichia coli* were added to each well, and the treatments (water, methanol 2%, and plant extracts) were added to a total volume of 500 µL. The plate was

incubated at 27 °C for 7 days. After incubation, the proportions of unhatched eggs and L1–L3 larvae in each well were counted under an inverted microscope.

2.3.5 Influence of polyphenols

To determine the influence of polyphenols in the larval exsheathment and egg hatching processes, PVPP (polyvinylpolypyrrolidone) was added to the extracts at concentrations of 1200 µg/mL and 5000 µg/mL for 2 h in a 1:50 ratio for LEIA and EHA, respectively (Barrau et al., 2005; Chan-Pérez et al., 2016). These solutions were then centrifuged at 3000 rpm (10 min., 20 °C). After centrifugation, the supernatant and the extracts without PVPP were used for testing the respective extracts in the same manner as described above.

EHA evaluations with PVPP were performed by determining the percentage of morulated eggs (ME), eggs containing larvae but failing to complete their eclosion (LFE) and larvae (L1) present in the sample according to Vargas-Magaña et al. (2014).

2.4. Statistical analysis

The results were used to determine the concentration required to inhibit 50% of hatching and larval exsheathment (IC_{50}) with respective 95% confidence intervals (95% CI) using PoloPlus 1.0 software (LeOra software, 2002). The extract was considered to be significantly ($P < 0.05$) more (or less) efficient than another extract when there was no overlap between the 95% confidence limits of the IC_{50} values (Roditakis et al., 2005). Data obtained from the PVPP incubations of extracts were analysed with the respective GLM to

assess differences in the percentage values of the results of the PBS control and those obtained for the extract solutions with and without PVPP.

3. Results

3.1. Chemical analysis

Initial phytochemical analysis of *T. ulmifolia* roots and leaves showed the presence of phenols and condensed tannins in the ACT and ETH extracts. The leaves extract showed coumarins, flavones, phytosteroids and saponins, whereas the roots extracts were positive for flavanones, catechins and triterpenoids. *P. platycephala* extracts showed phenols, flavones and phytosteroids. The seeds extracts showed condensed tannins, and the leaves extracts were positive for flavones and saponins. *D. gardneriana* extracts showed the presence of phenols, condensed tannins, flavones, flavanones, phytosteroids and saponins. Mass spectrometry data shows that each species predominates one class of compounds. *D. gardneriana* presents as major flavonoid quercetin derivatives, while *P. platycephala* shows in its majority composition of the flavonoids catechin derivatives. The species *T. ulmifolia* has the majority composition of the flavonoid with basic skeletons of apigenin and luteolin (Supplementary material).

3.2. Egg Hatching Assay (EHA)

The ETH extract of *T. ulmifolia* leaves showed the highest egg hatching inhibition with the lowest IC_{50} value of 0.43 mg/mL (95% CI 0.40-0.46 mg/mL), followed by the ETH extract of *P. platycephala* seeds (IC_{50} 1.34, 95% CI 1.17-1.34 mg/mL) (Table 2). Seven different extracts did not show activity with low egg hatching inhibition at 10 mg/mL (Table 2).

3.3. Larval Exsheathment Inhibition Assay (LEIA)

We observed inhibitory effects of exsheathment in all extracts tested in the present study (Table 2); however, the extracts of *T. ulmifolia* roots were not dose-dependent. The ACT and ETH extracts of *P. platycephala* leaves showed a significant inhibition of larval exsheathment with the lowest IC₅₀ values of 0.08 and 0.07 mg/mL, respectively (Table 2).

3.4. Larval Development Assay (LDA)

The ACT and ETH extracts of *P. platycephala* leaves showed the highest inhibition of larval development with the lowest IC₅₀ values of 0.04 and 0.05 mg/mL, respectively (Table 2). We observed activities for all of the extracts tested in the present study (Table 2).

3.5. Role of polyphenols on AH effects

The effects of leaves extracts of *T. ulmifolia* and *P. platycephala* were blocked by PVPP and permitted the highest levels of larval development and egg hatching (Table 3). These same effects were evident when using the ACT extract of *P. platycephala* seeds and *D. gardneriana* bark. However, the ETH extract of *P. platycephala* seeds plus PVPP showed an interesting effect: the number of larvae failing eclosion increased ($P < 0.05$) (Table 3). The PVPP blocked the inhibition of larval exsheathment with the ACT and ETH extracts of roots and leaves from *T. ulmifolia*, the ACT extract of *P. platycephala* seeds, and the ETH extracts of *P. platycephala* and *D. gardneriana* leaves (Figures 1 and 2).

Table 1. The concentrations required to inhibit egg hatching by 50% (EHA), larval exsheathment (LEIA) and larval development (LDA) in *Haemonchus contortus* (IC₅₀) with respective 95% confidence intervals (95% CI) for *Turnera ulmifolia*, *Parkia platycephala* and *Dimorphandra gardneriana* extracts.

Plant	Part	Extract	Assay		
			EHA	LEIA	TDL
<i>T. ulmifolia</i>	Roots	ACT	> 10	1.2*	0.19 (0.16-0.22)c
		ETH	> 10	1.2*	0.52 (0.45-0.61)e
	Leaves	ACT	3.2 (2.6-3.2)d	0.15 (0.14-0.16)c	0.12 (0.10- 0.13)b
		ETH	0.4 (0.4-0.5)a	0.31 (0.27- 0.35)e	0.31 (0.29-0.34)d
<i>P. platycephala</i>	Seeds	ACT	> 10	0.46 (0.42-0.51)g	0.74 (0.70-0.77)f
		ETH	1.3 (1.2-1.5)b	0.75 (0.69- 0.82)i	0.88 (0.85-0.92)g
	Leaves	ACT	2.4 (2.0-2.9)c	0.08 (0.07-0.09)a	0.04 (0.03-0.05)a
		ETH	> 10	0.07 (0.05-0.09)a	0.05 (0.05-0.06)a
<i>D. gardneriana</i>	Barks	ACT	> 10	0.36 (0.33- 0.40)f	0.16 (0.15-0.17)c
		ETH	> 10	0.53(0.48-0.57) h	0.18 (0.15-0.21)c
	Leaves	ACT	> 10	0.12 (0.11-0.13)b	0.13 (0.10-0.16)b, c
		ETH	3.4 (2.6-5.1)d	0.23 (0.22-0.25)d	0.53 (0.49-0.58)e

ACT: Acetone extract; ETH: Ethanolic extract. *Treatments showed no dose-dependent effects. Different letters in the same column indicate significant differences (P < 0.05).

Table 2. Effect of the addition of PVPP (polyvinylpyrrolidone) on the proportion of morulated eggs (ME), larvae failing eclosion (LFE) and larvae (L) of *Haemonchus contortus* resulting from incubations with different extracts of *Turnera ulmifolia*, *Parkia platycephala* and *Dimorphandra gardneriana* at a concentration of 5 g/mL (methanol 2%) .

Plant	Part	Control/Extract	Life Stage		
			ME	LFE	L
		Methanol (2%)	2.2 ± 1.2 ^a	6.67± 3.05 ^a	91.11± 1.6 ^a
<i>T. ulmifolia</i>					
	Roots				
		Act	2.3±0.8 ^a	2.5±1.1 ^a	95.2±1.7 ^a
		Act+PVPP	4.0±3.1 ^a	4.0±3.3 ^a	92.0± 2.6 ^a
		ETH	1.1±0.02 ^a	3.3±0.06 ^a	95.6±0.08 ^a
		ETH +PVPP	2.2±0.6 ^a	3.9±0.3 ^a	93.9±0.3 ^a
	Leaves				
		Act	32.3±3.2 ^b	60.5±4.5 ^b	7.1±1.0 ^b
		Act+PVPP	8.4±2.4 ^c	36.7±3.4 ^c	54.9±3.9 ^c
		ETH	22.5±1.1 ^b	70.8±1.0 ^b	6.7±1.5 ^b
		ETH +PVPP	11.9±4.4 ^c	56.1±3.4 ^c	36.0±4.4 ^c
<i>P. platycephala</i>					
	Seeds				
		Act	21.2±3.1 ^b	71.0±3.4 ^b	7.8±0.5 ^b
		Act+PVPP	4.0±1.0 ^a	0.9±0.5 ^a	95.1±0.7 ^a
		ETH	29.5±3.3 ^b	65.7±3.9 ^b	4.8±2.1 ^b
		ETH +PVPP	8.3±2.5 ^c	85.0±2.5 ^c	6.7±0.7 ^b
	Leaves				
		Act	5.1±1.8 ^a	49.9±3.5 ^b	45.0±3.9 ^b
		Act+PVPP	3.4±2.1 ^a	0.8±0.4 ^a	95.8±2.5 ^a
		ETH	6.2±1.9 ^a	29.3±2.4 ^b	64.5±3.8 ^b
		ETH +PVPP	5.4±0.7 ^a	0.5±0.3 ^a	94.1±0.6 ^a
<i>D. gardneriana</i>					
	Bark				
		Act	5.8±0.4 ^a	12.3±3.6 ^b	82.3±4.1 ^b
		Act+PVPP	2.0±1.3 ^a	4.2±3.5 ^a	93.7±4.0 ^a
		ETH	7.8±3.1 ^b	4.6±3.1 ^a	87.6±4.0 ^b
		ETH +PVPP	8.1±1.0 ^b	7.3±4.1 ^a	84.6±4.1 ^b
	Leaves				
		Act	3.8±0.6 ^a	1.4±1.0 ^a	94.8±1.5 ^a
		Act+PVPP	4.1±1.15 ^a	1.7±0.8 ^a	94.2±1.77 ^a
		ETH	20.3±3.8 ^b	78.5±3.5 ^b	1.2±0.5 ^b
		ETH +PVPP	12.4±4.5 ^c	83.8±4.5 ^b	3.8±1.0 ^b

ACT: acetone:water extract; ETH: ethanol:water extract.

Different letters in the same column in each category of each extract means a significant difference (P < 0.05).

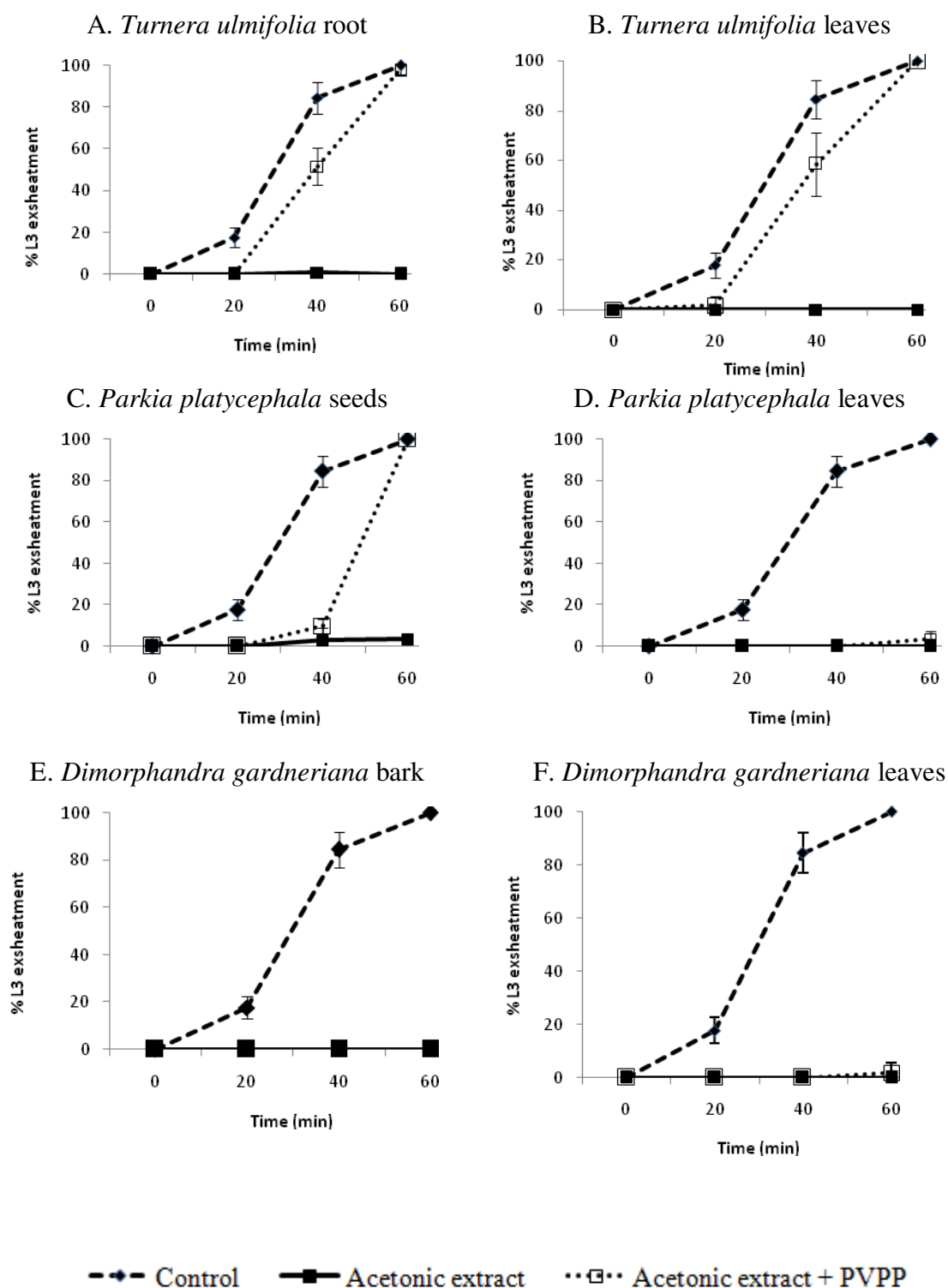


Figure 1. Larval exsheathment of *Haemonchus contortus* in the presence of acetonic extracts of A) roots and B) leaves of *Turnera ulmifolia*, C) seeds and D) leaves of *Parkia platycephala*, and E) bark and F) leaves of *Dimorphandra gardneriana* at a concentration of 1200 $\mu\text{g/mL}$ and their combinations with PVPP (polyvinylpyrrolidone).

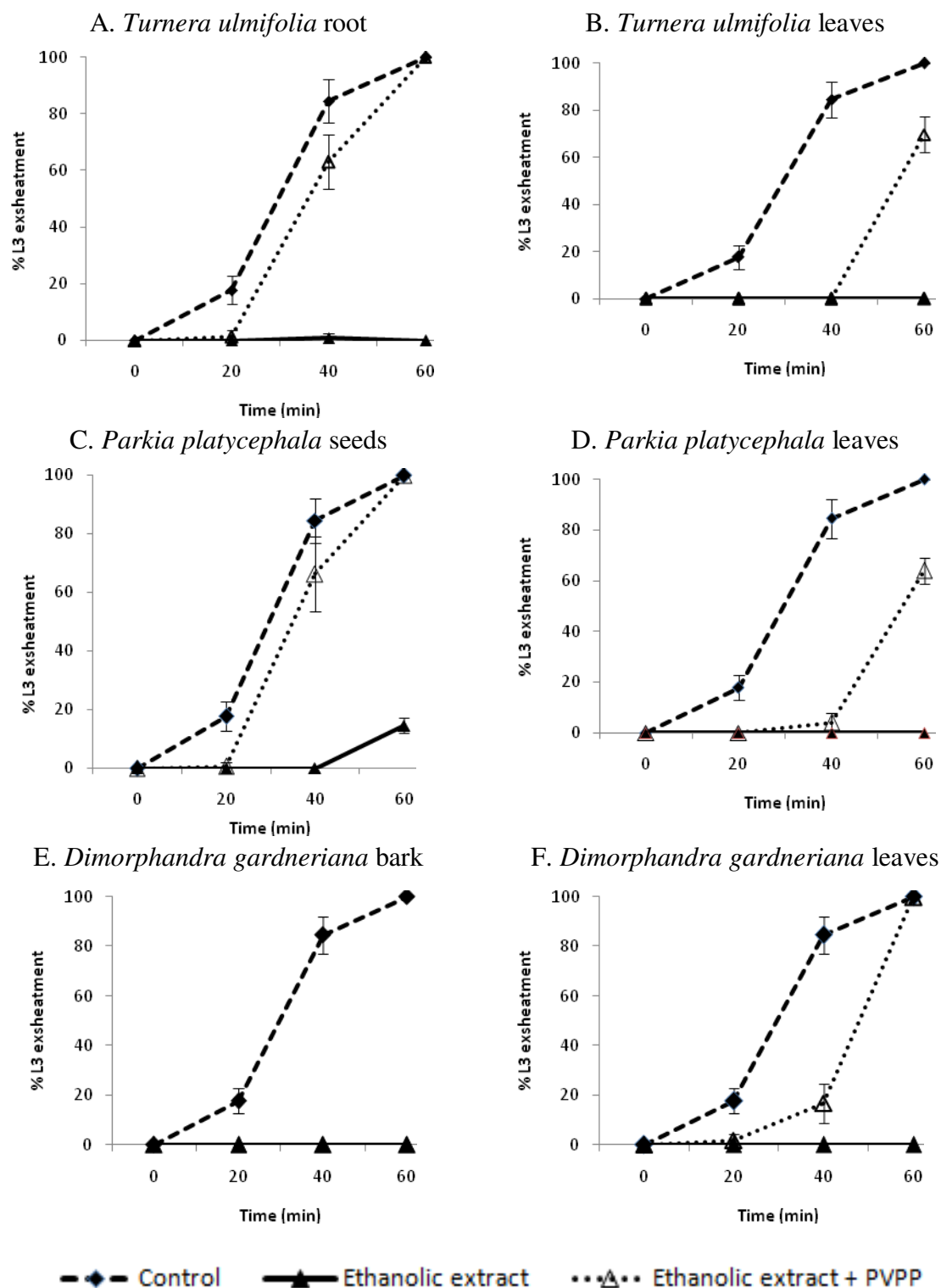


Figure 2. Larval exsheathment of *Haemonchus contortus* in the presence of ethanolic extracts of A) roots and B) leaves of *Turnera ulmifolia*, C) seeds and D) leaves of *Parkia platycephala*, and E) bark and F) leaves of *Dimorphandra gardneriana* at a concentration of 1200 $\mu\text{g/mL}$ and their combinations with PVPP (polyvinylpyrrolidone).

4. Discussion

Ethnoveterinary and ethological approaches are two ways to select bioactive plants (Huffman & Seifu, 1989; Diehl et al., 2004). The combined use of these techniques can increase the possibility of selecting bioactive plants. In the present study, we selected three plants that have been used by humans to treat animals and that were naturally grazed by goats. *T. ulmifolia*, *P. platycephala* and *D. gardneriana* are highly used by humans to treat many infections. Moreover, *P. platycephala* is the main leguminous plant used by the farmers in the nutritional diets of small ruminants in parts of northeast of Brazil (Machado et al., 1999; Alves, 2004; Cavada et al., 2006; Alves et al., 2007; Moura et al., 2008).

The exploitation of fodder plant material as nutraceuticals has been evaluated as a novel option to benefit from the properties of plants against nematodes (Waller and Thamsborg, 2004; Hoste et al., 2006; Alonso-Diaz et al., 2010; Hoste et al., 2012). Therefore, it is important obtain information regarding the nutritional intake of plants that can be selected to observe anthelmintic effects (Hoste et al., 2015; Singh et al., 2015). The parts of plants consumed need have medium to high protein and energy contents and low lignin concentrations. *P. platycephala* seeds, *D. gardneriana* leaves and *T. ulmifolia* leaves exhibit considerable amounts of crude protein (17.5, 20.8, and 21.5%, respectively). We did not perform the complete chemical analysis of *Turnera ulmifolia* root because its high lignin content. Lignin is indigestible in the rumen environment and is toxic for many ruminal microorganisms (Van Soest, 1994), which would make nonviable for use as a nutraceutical. However, even when a plant or plant part is not or cannot consumed by the animal, it still has utility as a possible source of PSMs that can be extracted and administered directly to animals (Hoste et al., 2015).

Considering the question of acceptability by the animals, the use of this criterion for the search of potentially therapeutic substances was promising. When studying plant species naturally selected by sheep grazing in a cerrado area, Morais-Costa et al. (2015) found that five species showed efficacy in inhibiting larval development of *H. contortus* among the nine species with the highest index of selectivity for the animals.

All tested extracts showed activity against at least one life stage of *H. contortus*. Different IC₅₀ values were calculated in the assays performed. Generally, these differences in values are attributed to the sensitivity of each stage. L1 is the most sensitive stage because the larva's pharynx is more sensitive to the paralysis caused by drugs, eggs are more resistant than L1 due their hard and resistant shell, and L3 larvae are more resilient due to their double sheath (Molan et al., 2002). These facts lead to the requirements for high or low contents of active compounds to achieve IC₅₀ values for each test.

Regarding the extracts used, the hydroalcoholic extracts had better inhibitory activities than hydroacetonic extracts for EHA, while the IC₅₀ values were generally lower with the hydroacetonic extracts than with the hydroalcoholic extracts in larval tests. As it is known, the solvents and protocols used for extraction promote variation in concentrations and the classes of secondary metabolites present in extracts (Marie-Magdeleine et al., 2009), which could have large effects on the activities of botanical compounds (Eloff, 1998). For instance, acetone:water mixtures are used for the extraction of phenolic compounds, such as condensed tannins (Cork; Krockenberger, 1991), which have anthelmintic actions related to their capacity to form complexes with proteins, such as proteins rich in proline and hydroxyproline in the sheath, cuticle and fluid, unsheathing nematode larvae and changing their physical and chemical properties (Alonso-Díaz et al.,

2011). Egg hatching could have been inhibited by a hydro-alcoholic extract due the saponins and/or other molecules that can inhibit *H. contortus* egg hatching (Camurca-Vasconcelos et al., 2007; Eguale et al., 2007).

In our study, a second set of EHA and LEIA using the hydroacetonic and hydroalcoholic extracts with and without PVPP was performed to attempt to identify the possible role of polyphenols in the AH activity observed. The results of these assays indicate that different extracts show variabilities in the roles of tannins in terms of ovicidal effect, %LFE, larvae, or larval exsheathment.

In the EHA, the addition of PVPP was not associated with significant reductions of the ovicidal effect for both *T. ulmifolia* leaves extracts, both *P. platycephala* seeds extracts and the *D. gardeneriana* leaves ETH extract. In the %LFE for *H. contortus*, the different extracts showed variations after incubation with PVPP that included different scenarios depending on the extract tested. Incubation with PVPP was associated with reductions in this effect with both *T. ulmifolia* leaves extracts, but they remained different to PBS control values. Other extracts did show reductions of the AH effect when incubated with PVPP (the *P. platycephala* seeds ACT extract and both leaves extracts). Finally, some isolates further increased the AH effect observed with the extracts alone. The latter finding suggests that polyphenols might have negative interactions with other PSMs, reducing the AH effect on egg hatching.

In the LEIA, after the addition of PVPP to the 1200 µg/mL extracts, different extracts showed variations in the rate of exsheathment of *H. contortus* larvae. For the *D. gardeneriana* bark extracts, incubation with PVPP was not associated with increased exsheathment values. Some extracts, after the addition of PVPP, showed partial restoration

towards the control values, as in the case of the *T. ulmifolia* leaves ACT extract and the *P. platycephala* leaves ETH extract, or a weak restoration (*P. platycephala* and *D. gardeneriana* leaves ACT extracts). Further, six extracts (both *T. ulmifolia* roots extracts and the leaves ETH extract, both *P. platycephala* seeds extracts and the *D. gardeneriana* leaves ETH extract) showed complete reversion of the inhibitory effect of larval exsheathment.

These results suggest that condensed tannins are not the only PSM involved in these antiparasitic effects in all extracts. Other studies suggest that tannins are not the only PSM responsible for antihelmintic activity on *H. contortus* (Azando et al., 2011; Vargas-Magaña et al., 2014; Chan-Pérez et al., 2016).

The considerable activity levels of the extracts observed in the different tests suggest a possible synergistic relationship of compounds that can interact with multiple molecular targets in various developmental stages of the parasite (Marie-Magdeleine et al., 2009).

To our knowledge, the current study is the first one assessing the antihelmintic activities of *T. ulmifolia*, *P. platycephala* and *D. gardeneriana*. The results showed clear *in vitro* anthelmintic activities against *H. contortus* at different stages and indicated the potential use of these species as a promising alternative approach to control helminthic infections of small ruminants. Furthermore, in view of this finding, the use of ethnoveterinary and ethological criteria may be an interesting strategy for the discovery of new drugs.

Conflict of interest statement

The authors declare that they have no competing interests.

Acknowledgements

The authors wish to thank CNPq (The Brazilian National Council for Scientific and Technological Development) for awarding a fellowship to L.M. Costa-Júnior and CAPES (Brazilian Federal Agency for support and evaluation of graduate education) for the scholarship to A.F. Oliveira. We also thank FAPEMA (Maranhão State Research Foundation) for financial support.

References

- Alonso-Díaz, M.A., Torres-Acosta, J.F.J., Sandoval-Castro, C.A., Capetillo-Leala, C., Brunet, S., Hoste, H., 2008. Effects of four tropical tanniniferous plant extracts on the inhibition of larval migration and the exsheathment process of *Trichostrongylus colubriformis* infective stage. *Vet. Parasitol.* 153, 187–192.
- Alonso-Díaz, M.A., Torres-Acosta, J.F., Sandoval-Castro, C.A., Hoste, H., 2011. Comparing the sensitivity of two in vitro assays to evaluate the anthelmintic activity of tropical tannin rich plant extracts against *Haemonchus contortus*. *Vet. Parasitol.* 181, 360–364.
- Alves, A.A., Sales, R.O., Neiva, J.N.M., Medeiros, A.N., Braga, A.P., Azevedo, A.R., 2007. Degradabilidade ruminal in situ de vagens de faveira (*Parkia platycephala* Benth.) em diferentes tamanhos de partículas. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 59, 1045–1051.
- Azando, E.V.B., Hounzangbé-Adoté, M.S., Olounladé, P.A., Brunet, S., Fabre, N., Valentin, A., Hoste, H., 2011. Involvement of tannins and flavonoids in their in vitro effects of *Newbouldia laevis* and *Zanthoxylum zanthoxyloides* extracts on the exsheathment of third-stage infective larvae of gastrointestinal nematodes. *Vet. Parasitol.* 180, 292–297.
- Bahuaud, D., Martinez-Ortiz de Montellano, C., Chauveau, S., Prevot, F., Torres-Acosta, F., Fouraste, I., Hoste, H., 2006. Effects of four tanniniferous plant extracts on the in vitro exsheathment of third-stage larvae of parasitic nematodes. *Parasitology* 132, 545–554.
- Barrau, E., Fabre, N., Fouraste, I., Hoste, H., 2005. Effect of bioactive compounds from Sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) on the in vitro larval migration of *Haemonchus contortus*: role of tannins and flavonol glycosides. *Parasitology* 131, 531–538.

- Camurca-Vasconcelos, A.L.F., Bevilaqua, C.M., Morais, S.M., Maciel, M.V., Costa, C.T., Macedo, I.T., Oliveira, L.M., Braga, R.R., Silva, R.A., Vieira, L.S., 2007. Anthelmintic activity of *Croton zehntneri* and *Lippia sidoides* essential oils. *Vet. Parasitol.* 148, 288–294.
- Chan-Pérez, J.I., Torres-Acosta, J.F.J., Sandoval-Castro, C.A., Hoste, H., Castañeda-Ramírez, G.S., Vilarem, G., Mathieu, C., 2016. In vitro susceptibility of ten *Haemonchus contortus* isolates from different geographical origins towards acetone:water extracts of two tannin rich plants. *Vet. Parasitol.* 217, 53–60.
- Coles, G.C., Bauer, C., Borgsteede, F.H.M., Geerts, S., Klei, T.R., Taylor, M.A., Waller, P.J., 1992. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Vet. Parasitol.* 44, 35–44.
- Conseil, G., Baubichon-Cortay, H., Dayan, G., Jault, J.M., Barron, D., Di Pietro, A., 1998. Flavonoids: a class of modulators with bifunctional interactions at vicinal ATP- and steroid-binding sites on mouse P-glycoprotein. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 95, 9831–9836.
- Cork, S.J., Krockenberger, A.K., 1991. Methods and pitfalls of extracting condensed tannins and other phenolics from plants: insights from investigations on Eucalyptus leaves. *J. Chem. Ecol.* 17, 123–134.
- Demeler, J., Küttler, U., El-Abdellati, A., Stafford, K., Rydzik, A., Varady, M., Kenyon, F., Coles, G., Höglund, J., Jackson, F., Vercruysse, J., von Samson-Himmelstjerna, G., 2010. Standardization of the larval migration inhibition test for detection of resistance to ivermectin in gastrointestinal nematodes of ruminants. *Vet. Parasitol.* 174, 58–64.
- Diehl, M.S., Atindehou, K.K., Téré, H., Betschart, B., 2004. Prospect for anthelmintic plants in the Ivory Coast using ethnobotanical Criteria. *J. Ethnopharmacol.* 95(2–33), 277–284.
- Dupuy, J., Larrieu, G., Sutra, J.F., Lespine, A., Alvinerie, M., 2003. Enhancement of moxidectin bioavailability in lamb by a natural flavonoid: quercetin. *Vet. Parasitol.* 112, 337–347.
- Eguale, T., Tilahun, G., DeBella, A., Feleke, A., Makonnen, E., 2007. *Haemonchus contortus*: in vitro and in vivo anthelmintic activity of aqueous and hydro-alcoholic extracts of *Hedera helix*. *Exp. Parasitol.* 116, 340–345.

- Eloff, J.N., 1998. Which extractant should be used for screening and isolation of antimicrobial components from plants? *J. Ethnopharmacol.* 60, 1–8.
- Hoste, H., Torres-Acosta, J.F.J., 2011. Non chemical control of helminths in ruminants: adapting solutions for changing worms in a changing world. *Vet.Parasitol.* 180, 144–154.
- Hoste, H., Torres-Acosta, J.F., Sandoval-Castro, C.A., Mueller-Harvey, I., Sotiraki, S., Louvandini, H., Thamsborg, S.M., Terrill, T.H., 2015. Tannin containing legumes as a model for nutraceuticals against digestive parasites in livestock. *Vet.Parasitol.* 212, 5–17.
- Huffman, M.A., 2003. Animal self-medication and ethnomedicine: exploration and exploitation of the medical properties of plants. *Proc. Nutr. Soc.* 63, 371–381.
- Huffman, M. A., Seifu, M., 1989. Observations on the illness and consumption of a possibly medicinal plant, *Vernonia amygdalina* (Del.), by a wild chimpanzee in the Mahale Mountains National Park, Tanzania. *Primates* 30: 51–63.
- LeOra Software, 2002. Polo Plus. Probit and Logit Analyses. LeOra Software, Berkeley, California, USA.
- Machado, F.A., Alves, A.A., Moura, J.W.S., Bezerra, A.M.E., 1999. Valor nutritivo da semente de faveira (*Parkia platycephala* Benth.). *Rev. Cient. Prod. Anim.* 1, 39–43.
- Klongsiriwet, C., Quijada, J., Williams, A.R., Mueller-Harvey, I., Williamson, E.M., Hoste, H., 2015. Synergistic inhibition of *Haemonchus contortus* exsheathment by flavonoid monomers and condensed tannins. *Int. J. Parasitol. Drugs. Drug Resist.* 5, 127–134.
- Matos, F.J.A., 2009. Introdução à fitoquímica Experimental, third ed. Edições UFC, Fortaleza, pp. 145.
- Marie-Magdeleine, C., Hoste, H., Mahieu, M., Varo, H., Archimede, H., 2009. In vitro effects of *Cucurbita moschata* seed extracts on *Haemonchus contortus*. *Vet.Parasitol.* 161, 99–105.
- Miller, C.M., Waghorn, T.S., Leathwick, D.M., Candy, P.M., Oliver, A.-M.B., Watson, T.G., 2012. The production cost of anthelmintic resistance in lambs. *Vet.Parasitol.* 186, 376–381.
- Molan, A.L., Waghorn, G.C., McNabb, W.C., 2002. Effect of condensed tannins on egg hatching and larval development of *Trichostrongylus colubriformis* in vitro. *Vet. Rec.* 19, 65–69.

- Nikousaleh, A., Prakash, J., 2016. Antioxidant components and properties of dry heat treated clove in different extraction solvents. *J. Food Sci. Technol.* 53,1993–2000.
- Oliveira, A.F. (unpublished results). Ethnoveterinary medicinal plant knowledge and practice among the inhabitants of a traditional community in the cerrado (Brazilian savanna) in Maranhão, Brazil.
- Rochfort, S., Parker, A.J., Dunshea, F.R., 2008. Plant bioactivities for ruminant health and productivity. *Phytochemical* 69, 299–322.
- Roditakis, E., Roditakis, N.E., Tsagkarakou, A., 2005. Insecticide resistance in *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) populations from Crete. *Pest Manage.Sci.* 61, 577–582.
- Salgado, J.A., Santos, C.P., 2016. Overview of anthelmintic resistance of gastrointestinal nematodes of small ruminants in Brazil. *Braz. J. Vet. Parasitol.* 25, 3–17.
- Vargas-Magaña, J.J., Torres-Acosta, J.F., Aguilar-Caballero, A.J., Sandoval-Castro, C.A., Hoste, H., Chan-Pérez, J.A., 2014. Anthelmintic activity of acetone-water extracts against *Haemonchus contortus* eggs: interactions between tannins and other plant secondary compounds. *Vet. Parasitol.* 206, 322–327.

7 CONCLUSÕES

Os habitantes da comunidade rural Bacuri, localizada no município de São Raimundos das Mangabeiras, Cerrado Maranhense, Brasil, utilizam plantas medicinais para tratar doenças dos seus animais de produção e estimação.

A validação científica dos extratos acetônico e hidroalcólico das espécies vegetais *Turnera ulmifolia* L. (folhas e raízes), *Parkia platycephala* Benth. (folhas e sementes) e *Dimorphandra gardneriana* Tul. (folhas e cascas), selecionadas por estudo etnoveterinário e critério etológico, demonstraram atividade anti-helmintica contra pelo menos um estágio de vida do *Haemonchus contortus*, demonstrando que o uso dos critérios etnoveterinário e etológico se mostram promissores na busca de potenciais substâncias terapêuticas.

8 PERSPECTIVAS

Esse trabalho contribui para realização de um inventário das plantas utilizadas no cerrado maranhense que pode servir de base de dados para futuros trabalhos de validação científica. Além disso, surgem perspectivas para a utilização das espécies vegetais *Turnera ulmifolia* L., *Parkia platycephala* Benth. e *Dimorphandra gardneriana* Tul. no preparo de novos medicamentos ou nutracêuticos de baixo custo, ambientalmente corretos, seguros e eficazes para uso animal. A eficiência do uso destas tornar-se-á mais evidente à medida que estudos toxicológicos, celulares e moleculares, bem como ensaios clínicos em espécies domésticas forem realizados e correlacionados à clínica médica veterinária.

ANEXOS

ANEXO 1

Submissão ao Journal of Ethnopharmacology

Dear Dr. Costa-Junior,

Your submission entitled "Ethnoveterinary medicinal plant knowledge and practice among the inhabitants Brazilian Savanna of rural community Bacuri, Maranhão" has been assigned the following manuscript number: JEP-D-16-01256.

Thank you for submitting your work to this journal.

Kind regards,

Marianne Verberne, Ph.D.

Editorial Office

Journal of Ethnopharmacology