



Abanico Veterinario. Janeiro-Dezembro 2022; 12:1-12. <http://dx.doi.org/10.21929/abavet2022.8>
Artigo Original. Recebido:11/08/2021. Accepted:21/02/2022. Publicado: 11/04/2022. Code: e2021-54.
<https://www.youtube.com/watch?v=g-ekT8gsuhk>

Efeito do extrato hidroalcoólico de folhas de *Leucaena leucocephala* sobre o nascimento do *Haemonchus contortus* *in vitro*

Effect of *Leucaena leucocephala* leaves hydroalcoholic extract over the hatching of *Haemonchus contortus* *in vitro*

López-Rodríguez Gabino¹ ID, Rivero-Perez Nallely^{1*} ID, Olmedo-Juárez Agustín² ID, Valladares-Carranza Benjamín³ ID, Rosenfeld-Miranda Carla⁴ ID, Hori-Oshima Sawako⁵ ID, Zaragoza-Bastida Adrian^{1**} ID

¹Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Instituto de Ciencias Agropecuarias, Área Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Hidalgo, México. ²Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad (CENID SAI-INIFAP), Carretera Federal Cuernavaca-Cuautla No. 8534/Col. Progreso, C.P. 62550, Jiutepec, Morelos, México, ³Universidad Autónoma del Estado de México, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. México. ⁴Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile, Isla Teja s/n, Casilla 567, Valdivia, Chile, ⁵Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias, Universidad Autónoma de Baja California, Mexicali, Baja California, México. *Autor responsável: Nallely Rivero-Perez. **Autor para correspondência: Adrián Zaragoza-Bastida. Rancho Universitario Av. Universidad km. 1, Ex Hacienda de Aquetzalpa, Apartado Postal No. 32, Tulancingo de Bravo, Hidalgo, México. E-mail: lo281911@uaeh.edu.mx, nallely_rivero@uaeh.edu.mx, aolmedoj@gmail.com, benvac2010@hotmail.com, crosenfe@uach.cl, shori@uabc.edu.mx, adrian_zaragoza@uaeh.edu.mx.

RESUMO

Haemonchus contortus (HC) é um nemátodo gastrointestinal de importância mundial devido às perdas econômicas que causa direta e indiretamente na produção ovina. Extratos vegetais ricos em metabólitos secundários têm sido propostos como um método alternativo de controle de nematóides gastrointestinais em ovinos e caprinos, pois cumprem sua função biológica e proporcionam um acompanhamento ambiental sustentável. O objetivo do presente experimento foi determinar o efeito do extrato hidroalcoólico de folhas de *Leucaena leucocephala* (EHLL) na eclosão do *Haemonchus contortus* *in vitro*. O extrato foi obtido pela técnica de maceração e foi submetido à caracterização fitoquímica qualitativa, na qual foram identificadas instaurações, oxidrils fenólicos, lactonas, flavonóis, florataninas, cumarinas, saponinas e compostos aromáticos. Concentrações de 100, 90, 80, 80, 80, 70, 70, 60 e 50 mg/mL do extrato foram avaliadas sobre a inibição de eclosão de ovos (IEH) de *Haemonchus contortus*. O extrato hidroalcoólico de *L. leucocephala* mostrou 71% IEH a 100 mg/mL, um CE₅₀ e CE₉₀ de 52,22 e 302 mg/mL respectivamente. O extrato hidroalcoólico de folhas de *Leucaena leucocephala* contém compostos bioativos (fenólicos, terpenos e flavonóides) que inibem o nascimento de ovos de HC com efeito dose-dependente. Portanto, a EHLL poderia ser considerada como uma alternativa para controlar este nematódeo, entretanto, é necessário determinar o metabolito específico que confere a atividade, determinar sua toxicidade e realizar ensaios *in vivo*.

Palavras-chave: *Leucaena leucocephala*, extrato hidroalcoólico, atividade ovicida, *Haemonchus contortus*



ABSTRACT

Haemonchus contortus (HC) is a gastrointestinal nematode of worldwide importance due to the economic losses it causes directly and indirectly in sheep production. Plant extracts rich in secondary metabolites have been proposed as an alternative method of gastrointestinal nematode control in sheep and goats, as they fulfill their biological function and a sustainable environmental accompaniment. The objective of the present experiment was to determine the effect of the hydroalcoholic extract of *Leucaena leucocephala* leaves (EHLL) on the hatching of *Haemonchus contortus* *in vitro*. The extract was obtained by the maceration technique and was subjected to qualitative phytochemical characterization, in which instaurations, phenolic oxydryls, lactones, flavonols, floratanins, coumarins, saponins and aromatic compounds were identified. Concentrations of 100, 90, 80, 70, 60 and 50 mg/mL of the extract were evaluated on the inhibition of egg hatching (IEH) of HC. The hydroalcoholic extract of *L. leucocephala* showed 71% IEH at 100 mg/mL, an EC₅₀ and EC₉₀ of 52.22 and 302 mg/mL, respectively. The hydroalcoholic extract of *L. leucocephala* leaves contains bioactive compounds (phenolics, terpenes and flavonoids) that inhibit HC egg hatching with dose-dependent effect. Therefore, EHLL could be considered as an alternative control on this nematode, however, it is necessary to determine the specific metabolite that confers the activity, determine its toxicity and perform *in vivo* assays.

Keywords: *Leucaena leucocephala*, hydroalcoholic extract, ovicidal activity, *Haemonchus contortus*.

INTRODUÇÃO

A produção de pequenos ruminantes no mundo é limitada por fatores agrometeorológicos, econômicos e sanitários, associados à presença de microorganismos que causam doenças infecciosas. As doenças parasitárias são um problema de saúde que afeta principalmente os sistemas de produção extensivos de pequenos ruminantes, causando perdas econômicas diretas, como a morte de animais, e perdas indiretas devido à diminuição dos parâmetros produtivos e reprodutivos (Pérez-Pérez *et al.*, 2014).

A hemicose é uma doença parasitária comum em pequenos ruminantes, o agente etiológico é o HC. O HC é classificado como um nematódeo hematófago com tropismo para o abomaso, onde ele se prende à alimentação. Este parasita está associado com anemia e gastrite, que dependendo do número de parasitas e da gravidade das manifestações clínicas pode causar morte em ovelhas adultas e neonatas (Kumarasingha *et al.*, 2016).

O controle da parasitose é baseado na administração de vermífugos de origem química sintética, incluindo derivados benzimidazólicos, lactonas macrocíclicas, derivados de aminocetonitrila monepantel e imidazotiazóis (Geary *et al.*, 2015). Entretanto, o uso irracional e inadequado levou ao desenvolvimento de populações nematóides com resistência aos anti-helmínticos; além disso, seu impacto ecológico foi relatado, afetando populações não-alvo e em termos de segurança alimentar, devido à presença de resíduos dessas moléculas em produtos e subprodutos de origem animal (Zajíčková *et al.*, 2020).



Devido aos problemas acima mencionados, várias estratégias foram implementadas no Controle Integrado de Parasitas (CIP); desta forma, o objetivo é reduzir o uso de drogas de origem química para mitigar o impacto negativo gerado no meio ambiente, juntamente com oferecer aos produtores alternativas de controle para reduzir os custos de produção (Pérez-Pérez *et al.*, 2014).

Com esta abordagem, o uso de extratos de plantas e seus metabólitos tem sido proposto como um dos métodos alternativos mais promissores para prevenir e controlar doenças associadas à presença de alguns nematóides em ruminantes, dadas as diferentes atividades biológicas que têm sido relatadas em extratos de plantas, incluindo a atividade anti-helmíntica (Kotze & Prichard, 2016).

O potencial anti-helmíntico das plantas tem sido associado ao seu conteúdo de metabólitos secundários, tais como terpenos (25.000 tipos), alcalóides (12.000 tipos) e compostos fenólicos (8.000 tipos); dos quais foram descritos diversos e possíveis mecanismos de ação de acordo com sua estrutura química e as ligações que poderiam ser formadas com as moléculas estruturais do ovo ou larva parasita (Zajíčková *et al.*, 2020).

O mecanismo de ação desses metabólitos secundários não é claro; no entanto, foi levantada a hipótese de que eles poderiam causar paralisia e/ou mortalidade larvar, interferir com o desenvolvimento larvar, inibir a eclosão de ovos e interferir com a fertilização feminina (Heeger *et al.*, 2017).

Vários resultados foram obtidos com extratos de plantas que demonstram o potencial anti-helmíntico dos metabólitos secundários contra alguns nematóides importantes em ruminantes, tanto em modelos *in vitro* quanto *in vivo*. Sob esta premissa, foram realizados estudos com extratos hidroalcoólicos obtidos da fruta e folhas de *Caesalpinia coriaria*, que inibem a eclosão de *H. contortus* e *H. placei* a 25 mg/mL como relatado por (Rojo-Rubio *et al.*, 2019).

Por outro lado, há evidências da avaliação realizada por (Castillo-Mitre *et al.*, 2017) que avaliaram o extrato hidroalcoólico de folhas de *Acacia cochliacantha* e relataram 98 a 100% de inibição da eclosão de ovos de *Haemonchus contortus* em concentrações de 0,62 a 1,56 mg/mL respectivamente; atividade que foi associada pelos autores à presença de derivados cafeícos e ácidos cumáricos presentes no extrato.

Da mesma forma, (Von Son-de Fernex *et al.*, 2015) determinaram o efeito ovicida do extrato, obtido de folhas de *Leucaena leucocephala*, sobre *Cooperia* spp. e identificaram a quercetina e o ácido cafeico como os compostos responsáveis por este efeito. Isto sugere a possibilidade de um efeito semelhante em outras espécies de nematódeos, como *Haemonchus contortus*.



A este respeito, ([Hernandez et al., 2014](#)) realizaram um ensaio *in vivo* em cordeiros em crescimento, que foram administrados 30 mL de extrato de *Leucaena leucocephala* durante 63 dias, observando uma diminuição da carga parasitária de 54%; entretanto, os autores não determinaram o mecanismo de ação deste efeito.

Assim, o presente estudo visou determinar o efeito do extrato hidroalcoólico de folhas de *Leucaena leucocephala* sobre a eclosão do *Haemonchus contortus in vitro*.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

As folhas de *Leucaena leucocephala* foram coletadas no município de Tejupilco, Estado do México (18°54'N 100°09'W). As árvores tinham em média 5 anos e 4 m de altura com um diâmetro à altura do peito (DAP) de 23 cm, coletando apenas o material vegetal da copa das árvores. Para identificação da planta, foi consultado o herbário da Universidade Nacional Autônoma do México (UNAM) e as amostras foram verificadas como *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit (IBUNAM:MEXU:1362417).

Preparação do extrato

As folhas de *Leucaena leucocephala* foram secas na sombra à temperatura ambiente. 1000 g foram macerados em 800 mL de uma solução hidroalcoólica (30% de metanol e 70% de água) e deixados em repouso por 72 horas. Após o tempo de descanso, o extrato foi filtrado utilizando papel filtro (Whatman® Qualitative Filter Paper, Grade 1) e depois os solventes foram removidos sob pressão reduzida em um evaporador rotativo (Büchi-Brand), obtendo-se um rendimento de 10 gramas. Isto foi realizado de acordo com a metodologia descrita por ([González-Alamilla et al., 2019](#)). Uma solução de reserva foi preparada com uma concentração de 400 mg/mL de água destilada, da qual as diferentes concentrações foram preparadas conforme descrito por ([Marie-Magdeleine et al., 2010](#)). As concentrações avaliadas foram: 100, 90, 80, 70, 60 e 50 mg/mL.

Caracterização fitoquímica qualitativa do extrato

A caracterização qualitativa do extrato foi realizada conforme descrito por ([González-Alamilla et al., 2019](#); [Morales-Ubaldo et al., 2020](#)). Os testes usados para determinar a presença ou ausência dos compostos ativos foram: Teste KMnO₄ (para insaturações), FeCl₃ (para oxidrils fenólicos, taninos vegetais), Liebermann-Burchard (para esteróis e triterpenos), Salkowski (para esteróis), teste coumarin, Baljet (para sesquiterpenlactonas), H₂SO₄ (para flavonóides), Shinoda (para flavonóides), Dragendorff (para alcalóides), teste de tanino, floratanina, esteróides, agitação e bicarbonato (para saponinas). Para cada teste, foram utilizados 500 mg do extrato.



Teste de inibição de eclosão de ovos (IEH)

Para obter ovos de *Haemonchus contortus*, uma ovelha da raça Hampshire (3 meses de idade e 37 kg de peso vivo), clinicamente saudável e livre de nematóides gastrintestinais, foi infestada com L3 da linhagem HC INIFAP (350 larvas/kg/LW). As ovelhas doadoras foram mantidas sob cuidados padrão, bem-estar e regulamentos de sofrimento desnecessário, de acordo com a legislação atual da Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. Vinte e um dias após a infestação, foram coletadas amostras de fezes e os ovos por grama de fezes (OPG) foram quantificados usando a técnica Mac Master descrita por (Rivero-Perez *et al.*, 2018).

Para a recuperação dos ovos HC, foi utilizada a metodologia descrita por (von Son-de Fernex *et al.*, 2015), 30 gramas de fezes foram lavadas com água destilada em peneiras de 200, 100, 75 e 37 μm . O material retido na peneira de 37 μm foi lavado com 6 mL de soro saturado e centrifugado a 3.000 rpm/ 3 min. Para obter ovos livres de matéria orgânica e soro, o sedimento foi lavado 3 vezes com água destilada, até obter uma solução de ovo limpa para a preparação do bioensaio. Numa placa de 96 poços, 50 μL de solução de ovo limpo (água destilada) foram adicionados com aproximadamente 150 ovos mais 50 μL de cada concentração a ser avaliada; com quatro réplicas, Ivermectin (5 mg/mL) foi usado como controle positivo e água destilada como controle negativo. A placa foi incubada a 30°C durante 48 h em câmara úmida, após a incubação, foi quantificado o número de ovos não incubados e larvas L1 por poço. Finalmente, foi calculada a porcentagem de inibição de eclosão (PIE) (Bizimenyera *et al.*, 2006).

Análise estatística

Os dados foram analisados pela ANOVA e uma comparação da média de Tukey a 95% de confiança. As concentrações efetivas que inibiram 50% (CE₅₀) e 90% (CE₉₀) de eclosão de ovos de HC foram calculadas usando uma análise PROBIT no pacote estatístico SAS 9.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A caracterização qualitativa fitoquímica indicou a presença de insaturações (redução ao dióxido de manganês), que estão associadas a compostos com ligações de etileno ou compostos com dois grupos hidroxila em carvões adjacentes. Um resultado positivo foi observado para os oxidrils fenólicos; estes indicam a presença de hormônios, pigmentos ou óleos essenciais. A presença de cumarinas do ciclo do ácido si-químico também foi determinada, assim como de lactonas, que são o produto da união de um álcool com um ácido carboxílico na mesma molécula. A reação positiva no teste Salkowski, indicativo da presença de esteróis e triterpenos. Por outro lado, a presença de flavonóis e flavonones também foi determinada (Azcón-Bieto & Talón, 2003).

Os resultados dos testes para calconas, quinonas, Shinoda, sesquiterpenlactonas, agitação e bicarbonato, Lieberman-Buchard, taninos e esteróides foram negativos. A ausência destes compostos pode ser associada às características próprias da planta,



condições ambientais, como temperatura, tipo de solo, radiação solar e umidade; assim como fatores do processo de extração, como a polaridade do solvente com o qual são extraídos, entre outros (Zajíčková *et al.*, 2020).

A caracterização do extrato de *Leucaena leucocephala* por cromatografia gasosa - espectrometria de massa foi relatada por (Salem *et al.*, 2011), no qual indicaram que esta forrageira possui quarenta e quatro metabólitos secundários diferentes; dos quais se destacam os seguintes compostos químicos: 2(H)-benzofuranona-a-tetrahydro-4,4,7a-trimetil (um terpeno volátil: 23,1%) e ácido pentadecanóico-14-metil éster (um ácido monometílico ramificado: 8,2%), entre outros.

No mesmo estudo, foi relatado que o extrato alcoólico de *Leucaena leucocephala* consiste principalmente de hidrocarbonetos oxigenados dos compostos C10 a C60, e contém predominantemente hidrocarbonetos fenólicos.

No mesmo contexto, (Von Son-de Fernex *et al.*, 2015) identificaram três fitoquímicos em um fracionamento biodirecionado do extrato hidroalcoólico de *Leucaena leucocephala*, estes compostos eram quercetina (82,21%), ácido cafeico (13,42%) e escopolamina (4,37%).

Embora o extrato de *L. leucocephala* seja rico em hidrocarbonetos fenólicos, que, como mencionado acima, pode eventualmente levar à perda da viabilidade dos ovos, a participação de outros tipos de metabólitos, tais como saponinas e flavonóides, não é descartada, gerando um efeito sinérgico, já que nas plantas e metabólitos trabalham sob uma dinâmica conjunta, semelhante ao sistema imunológico, conferindo proteção contra bactérias, vírus, parasitas e até mesmo predadores. Isto se deve à formação de moléculas que permitem sua sobrevivência, ou simplesmente convergindo em algum ponto no mesmo caminho metabólico (Azcón-Bieto & Talón, 2003).

Na maioria das plantas, a presença de metabólitos secundários é distribuída de acordo com as partes que compõem uma planta (folhas, flor ou fruto, caule e raiz). Assim, a presença de metabólitos pode apresentar pequenas variações, pois cada uma das partes da planta é exposta a diferentes fatores de estresse e, portanto, gerar os metabólitos necessários que conferem proteção e, portanto, atividades biológicas (Olguín-Rojas *et al.*, 2019).

Diferentes concentrações do extrato hidroalcoólico de *Leucaena leucocephala* foram avaliadas quanto à inibição da eclosão do ovo HC. Como pode ser visto na tabela 1, existem diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$). O extrato hidroalcoólico de folhas de *Leucaena leucocephala* apresentou sua melhor porcentagem de inibição de eclosão de ovos a 100 mg/mL (71%), as concentrações de 90, 80 e 70 mg/mL não mostraram diferenças estatísticas significativas entre eles ($p > 0,05$), com 67, 65 e 62% de inibição de eclosão de ovos respectivamente. As menores porcentagens



foram obtidas em concentrações de 60 e 50 mg/mL, o que mostra um comportamento dose-dependente, onde quanto menor a concentração do extrato, menor a porcentagem de inibição de eclosão.

Tabela 1. Porcentagem de inibição da eclosão de ovos *Haemonchus contortus* utilizando extrato hidroalcoólico de folhas de *Leucaena leucocephala*

Concentração (mg/mL)	%IEH ± E.P
Água destilada	4 ± 0.22 ^e
Ivermectina	100 ^a
EHLL 100	71 ± 0.94 ^b
EHLL 90	67 ± 0.63 ^c
EHLL 80	65 ± 0.51 ^c
EHLL 70	62 ± 0.54 ^c
EHLL 60	56 ± 0.83 ^d
EHLL 50	48 ± 0.89 ^d
Valor de P	0.001

EHLL, extrato hidroalcoólico de folhas de *Leucaena leucocephala*; IEH, inibição de eclosão de ovos; E:P erro padrão; diferentes literais dentro da mesma coluna indicam diferenças estatísticas significativas ($p < 0,05$)

Algumas pesquisas relataram efeitos favoráveis de uma grande variedade de extratos; no entanto, não foram capazes de determinar os mecanismos pelos quais a perda de viabilidade dos ovos ocorre nos nematódeos.

A este respeito, (Hernandez *et al.*, 2014) Hernandez et al., 2014) avaliaram o extrato hidroalcoólico de *Leucaena leucocephala* e observaram uma redução na carga parasitária de 54% nos cordeiros em crescimento; entretanto, o mecanismo de ação sobre os parasitas em questão não foi determinado. Foi relatado que alguns compostos presentes em extratos vegetais possuem metabólitos como saponinas e taninos que interferem na fecundidade das fêmeas, diminuindo assim a carga parasitária na contagem de ovos (Zajíčková *et al.*, 2020). Dado esse histórico, os resultados obtidos na presente investigação podem sugerir que a diminuição da carga parasitária no estudo acima mencionado poderia estar associada à inibição da eclosão de ovos, induzida pelo extrato hidroalcoólico de *Leucaena leucocephala* (71% a 100 mg/mL), relatada na presente investigação.

Como mencionado, há efeitos diretos que sugerem a capacidade dos taninos de se ligarem às proteínas da mucosa intestinal e às glicoproteínas da cutícula ou proteínas estruturais dos ovos, interferindo no desenvolvimento e crescimento e inibindo o nascimento por perda de viabilidade (Hoste *et al.*, 2005). A partir da abordagem etnobotânica, o uso de alternativas de controle baseadas em extratos vegetais envolve uma variedade de compostos farmacologicamente ativos, especialmente taninos, flavonóides e fenilpropanóides, aos quais são atribuídas atividades biológicas como



antiinflamatórios, antioxidantes e anti-helmínticos (Mravčáková *et al.*, 2019). Com relação às aplicações de atividade anti-helmíntica de extratos vegetais, são mencionados os mecanismos propostos que podem variar de acordo com o conteúdo dos metabólitos presentes ou isolados, dependendo do tipo e da polaridade dos solventes utilizados (Zajíčková *et al.*, 2020).

A capacidade dos taninos de formar complexos com glicoproteínas pode levar à inativação de enzimas importantes para o desenvolvimento dos ovos, bem como para iniciar o processo de eclosão dos ovos. A este respeito, (Rojo-Rubio *et al.*, 2019) determinaram que a uma concentração de 25 mg/mL de extrato hidroalcoólico de folhas de *Caesalpinia coriaria* inibe 95% da eclosão de ovos de HC, atividade que estava associada ao teor de tanino nas folhas de *Caesalpinia coriaria* (200 g/kg de matéria seca). Assim, foi documentado que os taninos podem afetar negativamente a eclosão dos ovos deste nematódeo, ligando-se à cutícula do ovo por ser rica em glicoproteínas, alterando o desenvolvimento embrionário e eventualmente o processo de eclosão.

A avaliação de diferentes extratos de *Leucaena leucocephala*, tais como extratos da vagem e partes aéreas da planta, foi relatada por (Rivero-Perez *et al.*, 2019) que determinaram que o extrato hidroalcoólico da vagem de *Leucaena leucocephala* inibe a eclosão de ovos nematóides em 20% a uma concentração de 50 mg/mL, uma porcentagem menor do que a obtida na presente investigação com a mesma concentração de 50 mg/mL (48%). Assim, infere-se que a variação dos metabólitos farmacologicamente ativos é uma função das partes vegetais (Hernandez-Alvarado *et al.*, 2018).

No estudo de (Von Son-de Fernex *et al.*, 2015), foi avaliado o efeito do extrato hidroalcoólico de folhas de *Leucaena leucocephala* sobre a inibição da eclosão do ovo de *Cooperia* spp. e observada uma inibição de $90,49 \pm 2,8\%$; estes foram analisados por microscopia eletrônica de varredura, observando-se danos externos irregulares com pequenas projeções e rupturas nas paredes laterais da membrana do ovo, confirmando o dano direto da fração do extrato contra os componentes estruturais do ovo de *Cooperia* spp, sugerindo um comportamento semelhante para o extrato hidroalcoólico de *Leucaena leucocephala* avaliado no presente estudo.

Em relação às concentrações efetivas (Carvalho *et al.*, 2012) descobriram que o extrato de acetato de etila, etanol e óleos essenciais de *Piper tuberculatum*, *Lippia sidoides*, *Mentha piperita*, *Hura crepitans* e *Capara guianensis* apresentaram um CE₅₀ sobre inibição de eclosão de HC a 0,031, 0,04, 0,037, 2,16 e 2,03 mg/mL respectivamente. Os resultados da presente investigação indicam um CE₅₀ de 52,22 mg/mL e um CE₉₀ de 302,8 mg/mL, em comparação, as concentrações são maiores; no entanto, isto pode estar associado ao uso de diferentes plantas e solventes no processo de extração dos metabólitos secundários, ver figura 1.

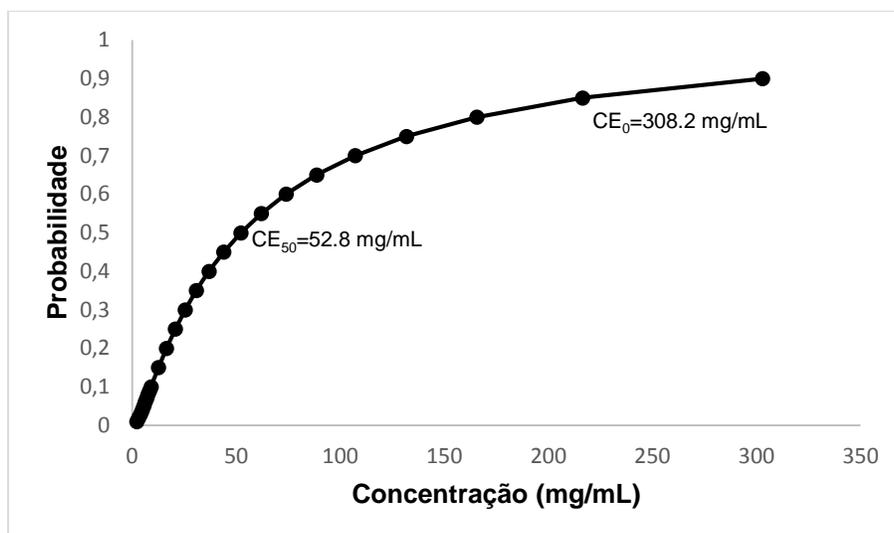


Figura 1. Concentrações efetivas CE_{50} e CE_{90} do extrato hidroalcoólico de *Leucaena leucocephala* no teste de eclosão de ovos *Haemonchus contortus*

CONCLUSÃO

O extrato hidroalcoólico de folhas de *Leucaena leucocephala* contém grupos de metabólitos secundários que inibem a eclosão *in vitro* de ovos de HC com efeito dose-dependente; entretanto, é necessário identificar o(s) metabólito(s) específico(s) que conferem a atividade, determinar sua toxicidade e realizar ensaios *in vivo*.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a assistência da Secretaria de Pesquisa da Universidade Autônoma do Estado de Hidalgo (UAEH) e do PRODEP pela subvenção concedida.

CONFLITO DE INTERESSES

Todos os autores declaram que não têm conflito de interesses.

LITERATURA CITADA

AZCÓN-BIETO J, Talón M. 2003. Fundamentos de fisiología vegetal. In McGraw Hill. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/libro?codigo=556962>

BIZIMENYERA E, Githiori J, Swan G, Eloff J. 2006. *In vitro* Ovicidal and Larvicidal Activity of the Leaf, Bark and Root Extracts of *Peltophorum africanum* Sond. (Fabaceae) on *Haemonchus contortus*. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 5(8):608–614. <http://docsdrive.com/pdfs/medwelljournals/javaa/2006/608-614.pdf>



CARVALHO CO, Chagas ACS, Cotinguiba F, Furlan M, Brito LG, Chaves FCM, Stephan MP, Bizzo HR, Amarante AFT. 2012. The anthelmintic effect of plant extracts on *Haemonchus contortus* and *Strongyloides venezuelensis*. *Veterinary Parasitology*. 183(3–4):260–268. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.07.051>

CASTILLO-MITRE GF, Olmedo-Juárez A, Rojo-Rubio R, González-Cortázar M, Mendoza-de Gives P, Hernández-Beteta EE, Reyes-Guerrero DE, López-Arellano ME, Vázquez-Armijo JF, Ramírez-Vargas G, Zamilpa A. 2017. Caffeyol and coumaroyl derivatives from *Acacia cochliacantha* exhibit ovicidal activity against *Haemonchus contortus*. *Journal of Ethnopharmacology*. 204:125–131. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.04.010>

GEARY TG, Sakanari JA, Caffrey CR. 2015. Anthelmintic drug discovery: Into the future. *Journal of Parasitology*. 101(2):125–133. <https://doi.org/10.1645/14-703.1>

GONZÁLEZ-ALAMILLA EN, Gonzalez-Cortazar M, Valladares-Carranza B, Rivas-Jacobo MA, Herrera-Corredor CA, Ojeda-Ramírez D, Zaragoza-Bastida A, Rivero-Perez N. 2019. Chemical Constituents of *Salix babylonica* L. and their antibacterial activity against Gram-positive and Gram-negative animal bacteria. *Molecules*. 24(16):1–12. <https://doi.org/10.3390/molecules24162992>

HEEGER A, Kosińska-Cagnazzo A, Cantergiani E, Andlauer W. 2017. Bioactives of coffee cherry pulp and its utilisation for production of Cascara beverage. *Food Chemistry*. 221:969–975. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.11.067>

HERNANDEZ-ALVARADO JL, Zaragoza-Bastida A, Lopez-Rodriguez GM, Peláez-Acero A, Olmedo-Juárez A, Rivero-Perez N. 2018. Antibacterial and antihelmintic activity of secondary metabolites of plants: approach in Veterinary Medicine. *Abanico Veterinario*. 8(1):14–27. <https://doi.org/10.21929/abavet2018.81.1>

HERNANDEZ PM, Salem AZM, Elghandour MMY, Cipriano-Salazar M, Cruz-Lagunas B, Camacho LM. 2014. Anthelmintic effects of *Salix babylonica* L. and *Leucaena leucocephala* Lam. extracts in growing lambs. *Tropical Animal Health and Production*. 46(1):173-178. <https://doi.org/10.1007/s11250-013-0471-7>

HOSTE H, Torres-Acosta JF, Paolini V, Aguilar-Caballero A, Etter E, Lefrileux Y, Chartier C, Broqua C. 2005. Interactions between nutrition and gastrointestinal infections with parasitic nematodes in goats. *Small Ruminant Research*. 60(1):141–151. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2005.06.008>



KOTZE AC, Prichard RK. 2016. Anthelmintic Resistance in *Haemonchus contortus*. History, Mechanisms and Diagnosis. *Advances in Parasitology*. 93:397-428.

<https://doi.org/10.1016/bs.apar.2016.02.012>

KUMARASINGHA R, Preston S, Yeo TC, Lim DSL, Tu CL, Palombo EA, Shaw JM, Gasser RB, Boag PR. 2016. Anthelmintic activity of selected ethno-medicinal plant extracts on parasitic stages of *Haemonchus contortus*. *Parasites and Vectors*. 9(1): 1-7.

<https://doi.org/10.1186/s13071-016-1458-9>

MARIE-MAGDELEINE C, Udino L, Philibert L, Bocage B, Archimede H. 2010. *In vitro* effects of *Cassava (Manihot esculenta)* leaf extracts on four development stages of *Haemonchus contortus*. *Veterinary Parasitology*. 173(1):85–92.

<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.06.017>

MORALES-UBALDO AL, Hernández-Alvarado JL, Valladares-Carranza B, Velázquez-Ordoñez V, Delgadillo-Ruiz L, Rosenfeld-Miranda C., Rivero-Perez N, Zaragoza-Bastida A. 2020. Antibacterial activity of the *Croton draco* hidroalcoholic extract on bacteria of sanitary importance. *Abanico Veterinario*.10(1):1–10.

<https://doi.org/10.21929/abavet2020.2>

MRAVČÁKOVÁ D, Váradyová Z, Kopčáková A, Čobanová K, Grešáková Ľ, Kišidayová S, Babják M, Dolinská MU, Dvorožňáková E, Königová A, Vadlejch J, Cieslak A, Ślusarczyk S, Várady M. 2019. Natural chemotherapeutic alternatives for controlling of haemonchosis in sheep. *Veterinary Research*. 15(1):1–13.

<https://doi.org/10.1186/s12917-019-2050-2>

OLGUÍN-ROJAS JA, Fayos O, Vázquez-León LA, Ferreiro-González M, del Carmen Rodríguez-Jimenes G, Palma M, Garcés-Claver A, Barbero GF. 2019. Progression of the total and individual capsaicinoids content in the fruits of three different cultivars of *Capsicum chinense* Jacq. *Agronomy*. 9(3):1–15.

<https://doi.org/10.3390/agronomy9030141>

PÉREZ-PÉREZ C, Hernández-Villegas MM, De La Cruz-Burelo P, Hernández-Bolio GI, Bolio-López GI. 2014. *In vitro* anthelmintic effect of methanolic leaf extract of *Gliricidia sepium* against gastrointestinal nematodes of sheep. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*.17(1):105–111. <https://www.redalyc.org/pdf/939/93930735013.pdf>



RIVERO-PEREZ N, Jaramillo-Colmenero A, Peláez-Acero A, Ballesteros-Rodea G, Zaragoza-Bastida A. 2019. Actividad antihelmíntica de la vaina de *Leucaena leucocephala* sobre nematodos gastrointestinales de ovinos (*in vitro*). *Abanico Veterinario*. 9(1):1–9. <https://doi.org/10.21929/abavet2019.95>

RIVERO-PEREZ N, Zaragoza-Bastida A, Vega-Sánchez V, Olave-Leyva JI, Vega-Angeles J, Peña-Jiménez FJ. 2018. Identification of main gastrointestinal parasites in donkeys (*Equus africanus asinus*) of Tulancingo Valley. *Abanico Veterinario*. 8(1):47–52. <https://doi.org/10.21929/abavet2018.81>

ROJO-RUBIO R, González-Cortazar M, Olmedo-Juárez A, Zimalpa A, Arece-García J, Mendoza-Martínez GD, Aaron-Lee H, Vázquez-Armijo J, Mendoza-de-Gives P. 2019. *Caesalpinia coriaria* fruits and leaves extracts possess *in vitro* ovicidal activity against *Haemonchus contortus* and *Haemonchus placei*. *Veterinaria México*. 6(4):2–13. <https://doi.org/10.22201/fmvz.24486760e.2019.4.601>

SALEM AZM, Olivares M, Lopez S, Gonzalez-Ronquillo M, Rojo R, Camacho LM, Cerrillo SMA, Mejía HP. 2011. Effect of natural extracts of *Salix babylonica* and *Leucaena leucocephala* on nutrient digestibility and growth performance of lambs. *Animal Feed Science and Technology*. 170(1-2):27–34. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.08.002>

VON SON-DE FERNEX E, Alonso-Díaz MA, Mendoza-de Gives P, Valles-de la Mora B, González-Cortazar M, Zamilpa A, Castillo-Gallegos E. 2015. Elucidation of *Leucaena leucocephala* anthelmintic-like phytochemicals and the ultrastructural damage generated to eggs of *Cooperia* spp. *Veterinary Parasitology*. 214:89–95. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.10.005>

ZAJÍČKOVÁ M, Nguyen L, Skálová L, Raisová S, Matoušková P. 2020. Anthelmintics in the future: current trends in the discovery and development of new drugs against gastrointestinal nematodes. *Drug Discovery Today*. 25(2):430–437. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2019.12.007>

Errata Erratum

<https://abanicoacademico.mx/revistasabanico-version-nueva/index.php/abanico-veterinario/errata>