






Abanico Veterinario. Janeiro-Dezembro 2021; 11:1-15. <http://dx.doi.org/10.21929/abavet2021.10>
Nota curta. Recebido: 09/09/2020. Aceito: 02/02/2021. Publicado: 15/02/2021. Chave: 2020-78.

Estudo preliminar da inibição *in vitro* de nematóides gastrointestinais de ovinos com extratos aquosos de plantas forrageiras

Preliminary study on the *in vitro* inhibition of gastrointestinal nematodes from sheep with aqueous extracts of forage plants

Nora Antonio-Irinea¹ , Carolina Flota-Bañuelos² , Antonio Hernández-Marín³ ,
Jesús Arreola-Enríquez¹ , Silvia Fraire-Cordero^{2*} 

¹Colegio de Postgraduados, Campus Campeche. Carretera Haltunchén-Edzná, km. 17.5, Champotón, Campeche, México. CP. 24050. ²CONACYT-Colegio de Postgraduados, Campus Campeche. Carretera Haltunchén-Edzná, km. 17.5, Champotón, Campeche, México. CP. 24050. ³Departamento de Veterinaria y Zootecnia. Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato, km 9. Carretera Irapuato-Silao, Exhacienda El Copal, Irapuato, Guanajuato. CP. 36824. *Autor para correspondência e responsável da pesquisa: Silvia Fraire-Cordero. CONACYT-Colegio de Postgraduados, Campus Campeche. Carretera Haltunchén-Edzná, km. 17.5, Champotón, Campeche, México. CP. 24050. antonio.nora@colpos.mx, cflota@colpos.mx, jahmarin@ugto.mx, jarreola@colpos.mx, frairec@colpos.mx.

RESUMO

A alta presença de nematóides gastrointestinais (ngi) em ovinos é uma causa de baixa produtividade. O objetivo foi determinar de forma preliminar a eficiência *in vitro* de extratos aquosos de *Gliricidia sepium*, *Leucaena leucocephala*, *Guazuma ulmifolia* e *Bursera simaruba* em três doses (0,75, 1,00 e 1,25 mL), na inibição da eclosão de ovos de ngi de ovinos. A eficiência de inibição na eclosão de ovos (EIO), identificação e proporção de gêneros larvais foram avaliados. A análise dos dados foi realizada por meio de testes de qui quadrado e análise de variância. Os quatro extratos obtiveram EIO de 50%, sendo semelhantes ($p > 0,05$) entre eles. A dose de 1,25 mL e as combinações de *Leucaena leucocephala* e *Gliricidia sepium* nas doses de 1,25 mL obtiveram maior eficiência (68,0, 85,0 e 77,0%, respectivamente). Foram identificados cinco gêneros de larvas (*Haemonchus* spp., *Trichostrongylus* spp., *Oesophagostomum* spp., *Cooperia* spp. E *Nematodirus* spp.), Sendo a prevalência mais alta ($p \leq 0,05$) *Haemonchus* spp. (58,0%). Todos os quatro extratos aquosos exibiram atividade ovicida ngi. No entanto, a dose de 1,25 mL e os extratos de *Leucaena leucocephala*, *Gliricidia sepium* em doses de 1,25 mL foram os mais eficazes.

Palavras-chave: Parasitas gastrointestinais, plantas anti-helmínticas, incubação de ovos.

ABSTRACT

The presence of gastrointestinal nematodes (GIN) in sheep is a low productivity cause. This study aimed to determine the *in vitro* efficiency of aqueous extracts of *Gliricidia sepium*, *Leucaena leucocephala*, *Guazuma ulmifolia*, and *Bursera simaruba* at three different doses (0.75, 1.00, and 1.25 mL), inhibiting the egg hatching of GIN from sheep. The efficiency of inhibition in egg hatching (IEH), larval identification, and its genera proportion were evaluated. Analysis of data was performed using Chi-square tests and Analysis of variance. The four extracts obtained an IEH of 50%, being similar ($p > 0.05$) between them. The 1.25 mL dose and its combinations of *Leucaena leucocephala* and *Gliricidia sepium* at 1.25 mL dose obtained the highest efficiency (68.0, 85.0, and 77.0%, respectively). Five genera of larva were identified (*Haemonchus* spp, *Trichostrongylus* spp, *Oesophagostomum* spp, *Cooperia* spp, and *Nematodirus* spp). The highest prevalence ($p \leq 0.05$) was obtained by *Haemonchus* spp (58.0%). According to the results, the four aqueous extracts exhibited ovicidal activity. However, the 1.25 mL dose and the *Leucaena leucocephala*, *Gliricidia sepium* extracts at 1.25 mL doses were the most effective.

Keywords: Gastrointestinal parasites, anthelmintic plants, egg hatching.

INTRODUÇÃO

No México, o impacto econômico derivado do parasitismo causado por nematóides gastrointestinais (NGI) é de 445 milhões de dólares por ano (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2017), representando um grave problema por afetar a produtividade animal; traduzindo-se em perda de apetite, peso, anemia, diarreia, retardo de crescimento e até morte (Rodríguez-Martínez *et al.*, 2018). Os anti-helmínticos químicos têm sido usados para controle de ngi por décadas devido ao seu amplo espectro e facilidade de uso. No entanto, o uso irracional deles (Closantel, Albendazole, Ivermectina e Nitroxinil), desenvolveu resistência em ngi (Mondragón-Ancelmo *et al.*, 2019) como foi relatado para os gêneros *Haemonchus contortus*, *Teladorsagia circumcincta*, *Trichostrongylus* spp., *E Nematodirus* spp., (Holsback *et al.*, 2016).

Atualmente, alternativas inovadoras e sustentáveis são necessárias para o controle das ngi, como o uso de plantas forrageiras, que além de oferecer benefícios pela qualidade nutricional, possuem ação anti-helmíntica; que tem sido relacionada à presença de metabólitos secundários, entre os quais estão: lectinas, terpenos, alcalóides, saponinas, antraquinonas, flavonóides e taninos (Oliveira *et al.*, 2017); sendo os últimos aqueles que têm sido associados principalmente nas funções vitais dos nematóides (Medina *et al.*, 2014). Foi relatado que estes têm a capacidade de se-ligar a proteínas estruturais (Son-de Fernex *et al.*, 2016) e, dependendo de onde e como se ligam a estruturas de nematóides, podem inibir a eclosão, desenvolvimento, motilidade larval e desembainhamento de ovos (Hoste *et al.*, 2012; Son-de Fernex *et al.* 2016).

Nesse sentido, plantas como *Gliricidia sepium*, *Leucaena leucocephala*, *Guazuma ulmifolia* e *Bursera simaruba* são consideradas um importante grupo de plantas candidatas com potencial como alimento para animais em ambientes tropicais e subtropicais. Em particular, *Leucaena leucocephala* e *Gliricidia sepium* são plantas altamente nutritivas, leguminosas e ricas em metabólitos secundários (Son-de Fernex *et al.*, 2012; Rivero-Pérez *et al.*, 2019). Têm sido considerados por suas propriedades medicinais e anti-helmínticas (Sánchez e Faria, 2013; Canul-Solís *et al.*, 2018), embora não tenham sido observados de forma consistente em animais.

Ao contrário, *Guazuma ulmifolia* e *Bursera simaruba* têm sido pouco estudados para examinar suas possíveis propriedades anti-helmínticas em animais, embora na medicina tradicional sejam usados contra doenças gastrointestinais e microbianas (Boligon *et al.*, 2013); entretanto, eles são altamente nutritivos e amplamente usados como ração ou suplemento alimentar para gado em áreas tropicais.

Portanto, o objetivo deste estudo preliminar foi determinar a eficiência *in vitro* de extratos aquosos de *Gliricidia sepium*, *Leucaena leucocephala*, *Guazuma ulmifolia* e *Bursera simaruba* em três doses (0,75, 1,00 e 1,25 mL), na inibição da eclosão de ovinos y ovos de nematóides gastrointestinais.

MATERIAL E MÉTODOS

Localização

O estudo foi realizado no Laboratório de Zootecnia da Faculdade de Pós-Graduação Campus Campeche, localizado no km 17,5 da rodovia Haltunchén-Edzná, Champotón, Campeche, México. Localizado a 19 ° 29 '51,79 "LN e 90 ° 32 '45,01" LO, com uma altitude de 24 metros acima do nível do mar. O clima predominante é quente subúmido com chuvas no verão, com temperatura média anual de 26 °C (García, 2004).

Obtenção do extrato aquoso

Foram selecionadas plantas de *Gliricidia sepium*, *Leucaena leucocephala*, *Guazuma ulmifolia* e *Bursera simaruba*, com folhas verdes (jovens e maduras), das quais foi coletado 1 kg de cada. As folhas foram lavadas duas vezes com água purificada para remoção de poeira e resíduos; em seguida, foram cortados em pedaços de 2 cm e colocados em baldes plásticos de 10 L, aos quais foi adicionado 1 L de água destilada, deixando repousar por 12 h. Depois de repousar, o conteúdo de cada cuvete foi vertido em recipientes de alumínio de 3 L e colocado em racks de aquecimento a 80 °C durante 40 min; a seguir, foi triturado com um misturador de imersão (T-fal®) por 5 min, para posteriormente filtrá-lo três vezes e depositá-lo em recipientes de 300 mL, previamente etiquetados para tratamento. Por fim, foram refrigerados a 5 °C até o uso ((Vinueza *et al.*, 2006)).

A suspensão obtida foi considerada como solução padrão (100%). Dessa solução foram retiradas as doses: 0,75, 1,00 e 1,25 mL, respectivamente, para cada tratamento, mais um grupo controle composto por água destilada, com 10 repetições para cada combinação, conforme Tabela 1.

Tabela 1. Distribuição dos tratamentos para avaliação da eficiência de extratos aquosos de plantas forrageiras em três doses na inibição da eclosão de nematóides gastrointestinais de ovinos

Dose (mL)	0.75	1.00	1.25
Extratos aquosos			
<i>Gliricidia sepium</i>	10	10	10
<i>Leucaena Leucocephala</i>	10	10	10
<i>Guazuma ulmifolia</i>	10	10	10
<i>Bursera simaruba</i>	10	10	10
Água destilada (controle)	10	10	10

Para cada combinação de extrato: dose, o conteúdo de fenóis totais (Folin), taninos totais (Folin + pvpp) (Makkar *et al.*, 1993) e taninos condensados (Vanillin) (Makkar e Becker, 1993) foram determinados como referência, na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootécnica da Universidade Autônoma de Yucatán, Yucatán, México (Tabela 2).

Tabela 2. Análise química de fenóis totais, taninos totais e taninos condensados de extratos aquosos de quatro plantas forrageiras

Extrato aquoso	Dose mL	Fenóis totais mg	Taninos totais mg	Taninos condensados mg
<i>Gliricidia sepium</i>	0.75	0.73	0.39	0.67
	1.00	0.97	0.52	0.89
	1.25	1.21	0.65	1.11
<i>Leucaena leucocephala</i>	0.75	1.99	0.86	1.17
	1.00	2.65	1.1	1.56
	1.25	3.31	1.44	1.95
<i>Guazuma ulmifolia</i>	0.75	1.00	0.77	0.19
	1.00	1.33	1.03	0.25
	1.25	1.66	1.29	0.31
<i>Bursera simaruba</i>	0.75	1.35	0.59	0.70
	1.00	1.8	0.78	0.93
	1.25	2.25	0.98	1.16

Obtenção de fezes e carga parasitária

O estudo foi realizado de acordo com as normas de uso e cuidado de animais destinados à pesquisa da Faculdade de Pós-Graduação do México e de acordo com a Norma Oficial Mexicana [NOM-024-ZOO-1995](#).

Antes do teste *in vitro*, o número de ovos por grama de fezes (o.p.g.) foi determinado por meio de um estudo de fezes. As fezes das ovelhas foram obtidas dum rebanho pertencente à fazenda “Los Robles” localizado em Adolfo López Mateos, Escárcega, Campeche, México, localizado a 18° 38 '09 .51 "NL e 90° 18 '04.69" LO, com clima subúmido quente com chuvas no verão e temperatura média de 26 °C ([García, 2004](#)). Dos quais 60 ovelhas com idade média de 1,5 anos foram retiradas ao acaso, manejadas em sistema semi-estável com pastejo diurno, confinamento noturno e sem desparasitação nos oito meses anteriores à coleta.

Todas as amostras de fezes foram homogeneizadas numa única amostra e processadas pela técnica de McMaster, modificada por [Rodríguez-Vivas e Cob-Galera \(2005\)](#), para contagem do número de ovos de *ngi*, obtendo-se uma média de 671,6 ± 250,4 opg, classificada em moderada infestação, variando de 200 a 800 opg, recomendada para estabelecer o controle do parasita ([Morales et al., 2010](#)).

Identificação e proporção do gênero de larvas *ngi*

Foi realizado cultivo larval com as fezes descritas anteriormente, com duração de nove dias, seguindo a metodologia de Corticelli e Lai (1963) descrita por ([Niec, 1968](#)), para determinar a eficiência dos extratos aquosos na eclosão de ovos *ngi*; onde os extratos

nas doses correspondentes foram aplicados todos os dias no momento da aeração. O líquido coletado em tubos Falcon® da fase final da cultura larval foi centrifugado (Centrífuga, VELAB VE-4000®) a 1.500 rpm (415,8 x g) por 15 min, para coleta das larvas por sedimentação.

Em seguida, foram colocados em refrigeração a 5 °C por cinco horas para interromper o metabolismo e serem contados em microscópio estereoscópico (VELAB VE-S3®). Do total de larvas obtidas em cada tratamento, foram retiradas 100, às quais foi adicionada solução de Lugol a 5% e observada ao microscópio (UOP UB102i®), a serem identificados por estruturas morfológicas, com base no membro anterior e/ou principalmente posterior (Niec, 1968).

Eficiência na inibição da eclosão de ovos

Foi determinado por meio da equação (1) proposta por Álvarez *et al.* (2007).

$$EIO = 100 \left[1 - \frac{\mu Tr}{\mu T} \right], \quad (1)$$

Onde, EIO = Porcentagem de eficiência na inibição de ovos, μTr = Média aritmética do grupo tratado e μT = Média aritmética do grupo controle.

Análise estatística

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado com arranjo fatorial (5x3) plus, onde o plus foi o tratamento controle. Os fatores foram: extrato aquoso (*G. sepium*, *L. leucocephala*, *G. ulmifolia*, *B. simaruba* e água destilada) e Dose (0,75, 1,00 e 1,25 mL). A análise dos dados foi realizada por meio de testes Qui-quadrado nas variáveis expressas em contagens (%) e análise de variância pelo procedimento de modelos lineares gerais (PROC GLM), do pacote estatístico SAS/STAT (SAS Institute Inc, 2012) em variáveis numéricas. As comparações de médias foram feitas pelo teste de Tukey. Todas as análises foram realizadas com nível de significância $\alpha = 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Eficiência na inibição de ovos ngi

Diferenças significativas ($p \leq 0,05$) foram encontradas na média de ovos incubados, sendo os tratamentos com extratos aquosos de plantas aqueles que obtiveram redução da metade dos ovos incubados, em relação ao controle. A dose de 1,25 mL obteve uma redução maior ($p \leq 0,05$) na eclosão dos ovos, em comparação ao controle. As menores ($p \leq 0,05$) eclosões de ovos foram apresentadas com extratos de *L. leucocephala*, *G. sepium* com doses de 1,25 mL e *B. simaruba* com 0,75 mL (Figura 1).

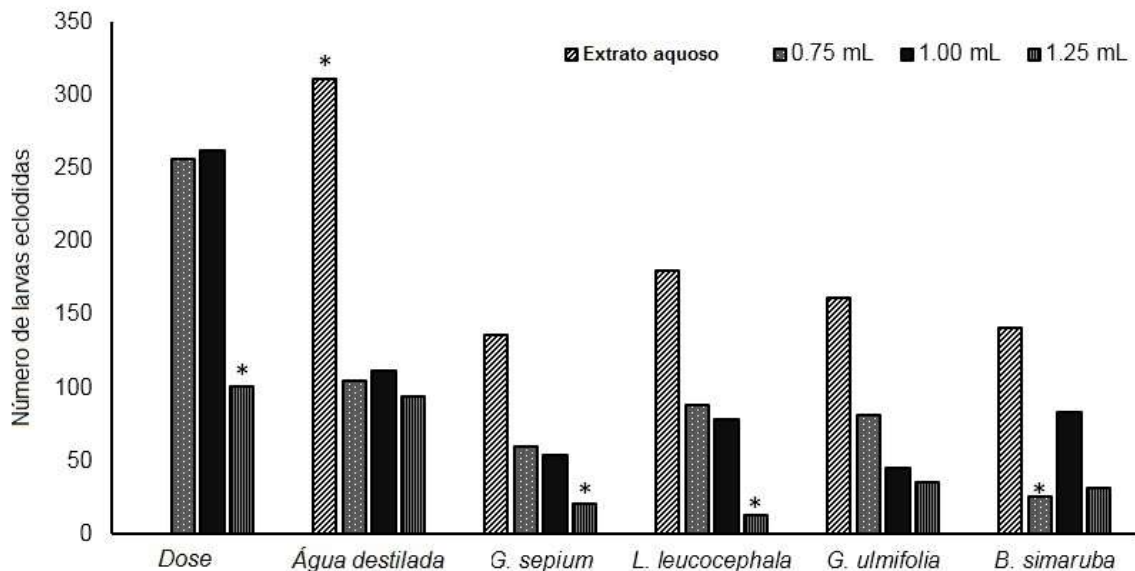


Figura 1. Média de larvas eclodidas de nematóides gastrointestinais de ovelhas com a adição de extratos aquosos de plantas forrageiras em três doses

Os resultados encontrados mostraram que os extratos aquosos afetam ativamente a eclosão dos ovos de nematóides gastrointestinais. Isso sugere que a atividade dessas plantas está geralmente associada à presença de metabólitos secundários (Torres-Acosta *et al.*, 2016; Oliveira *et al.*, 2017), principalmente à concentração de taninos condensados, sem descartar a participação de outros metabólitos no efeito anti-helmíntico. Alega-se que o mecanismo de ação dos compostos ativos pode ser por interação com as membranas celulares, o que resulta em desestabilização e consequente aumento da permeabilidade celular que facilita a ação sobre as proteínas intracelulares do ovo (Vieira *et al.*, 2018) que inibe sua eclosão.

No entanto, outros mecanismos podem contribuir para o efeito observado, como o relatado por Vargas-Magaña *et al.* (2014) e Chan-Pérez *et al.* (2016), que citam que os extratos vegetais podem possivelmente inibir a reação de enzimas presentes na membrana do ovo necessária para a eclosão, ou prevenir a formação de larvas por afetar a mórula para que as larvas não se desenvolvam completamente e não cheguem a eclodir. Isso resulta numa redução no número de larvas que eclodem dos ovos; no entanto, essas são apenas hipóteses que devem ser testadas em estudos futuros.

Em relação ao EIO, os extratos aquosos foram semelhantes ($p > 0,05$) em eficácia, com cerca de 50% de inibição. A dose de 1,25 mL foi mais eficiente ($p \leq 0,05$) em relação ao restante das doses avaliadas. A combinação de *L. leucocephala* com doses de 1,25 mL foi a mais eficiente ($p \leq 0,05$), seguida de *G. sepium* a 1,25 mL e *B. simaruba* a 0,75 mL.

Ressalta-se que, embora a eficiência do extrato de *G. ulmifolia* não tenha sido das melhores, ele apresentou eficiências superiores a 59,8% com as doses de 1,00 e 1,25 mL (Tabela 3).

Tabela 3. Eficiência de extratos aquosos de plantas forrageiras em três doses na inibição de ovos de nematóides gastrointestinais ovinos

Extrato aquoso	Dose (mL)	Eficiência (%)	Eficiencia según extracto acuoso (%)
<i>Gliricidia sepium</i>	0.75	48.8 cd	56.0 A
	1.00	51.2 d	
	1.25	77.6 g	
<i>Leucaena leucocephala</i>	0.75	16.0 ab	42.0 A
	1.00	30.0 bc	
	1.25	85.7 h	
<i>Guazuma ulmifolia</i>	0.75	22.0 abc	48.0 A
	1.00	59.8 de	
	1.25	62.4 ef	
<i>Bursera simaruba</i>	0.75	75.4 g	55.0 A
	1.00	25.1 abc	
	1.25	66.7 ef	
Agua destilada	0.75	0.0 a	0.0 B
	1.00	0.0 a	
	1.25	0.0 a	
Eficiencia según dosis (%)	0.75	18.0 X	
	1.00	16.0 X	
	1.25	68.0 Y	

a, b, c, d, e, f, g, h. Letras diferentes em cada coluna indicam diferença estatística ($p \leq 0,05$). A, B. Letras diferentes em cada coluna indicam diferença significativa ($p \leq 0,05$). X, Y. Letras diferentes em cada coluna indicam diferença significativa ($p \leq 0,05$).

Todos os extratos foram eficientes em inibir a eclosão de ovos de ngi, em relação ao controle; possivelmente devido à presença de metabólitos secundários presentes nas folhas (Martínez-Ortiz *et al.*, 2013; Oliveira *et al.*, 2017), principalmente os taninos condensados aos quais grande parte dessa atividade tem sido atribuída; que em contato com o ovo penetram na cutícula, causando danos ultraestruturais, impedindo o desenvolvimento do ovo ou paralisando as larvas do primeiro estágio (Vargas-Magaña *et al.*, 2014). Em algumas leguminosas tropicais, atividade anti-helmíntica *in vitro* contra nematóides foi relatada, sugerindo que a atividade pode estar relacionada à presença de taninos (Hoste *et al.*, 2012; González-Cortázar *et al.*, 2018).

Por outro lado, em plantas não leguminosas, como *G. ulmifolia*, sua atividade pode estar relacionada a componentes fenólicos e flavonóides (Feltrin *et al.*, 2012), os quais têm sido relatados com atividade anti-helmíntica, o que pode supor que estes tenham algum influência na resposta encontrada para este trecho. Porém, como o extrato é uma mistura de compostos bioativos, estes podem atuar de forma individual, aditiva ou sinérgica.

Os extratos de *G. sepium*, *L. leucocephala*, na dose de 1,25 mL e *B. simaruba* na dose de 0,75 mL inibiram a eclosão larval em 79%, esta resposta está relacionada ao maior conteúdo de taninos condensados, previamente relatado para estas plantas (Tabela 2), o que pode ajudar a explicar os efeitos na EIO com esses extratos. Esses resultados são superiores aos relatados por [Puerto et al. \(2014\)](#), que determinou o efeito *in vitro* na eclosão dos ovos, utilizando o extrato aquoso de *G. sepium*, obtendo 40% de inibição e 50% de inibição, com doses de 7,90 mg mL⁻¹ utilizando *L. leucocephala* relatado por [Son-de Fernex et al. \(2016\)](#), com extratos aquosos e acetônicos, mas não para *G. sepium*, obtendo 100% de inibição dos ovos na concentração de 1,03 mg mL⁻¹.

Em geral, um efeito dose-dependente positivo foi observado na maioria dos extratos vegetais. Porém, no extrato à base de *B. simaruba*, as maiores respostas foram encontradas em doses menores, portanto, propõe-se que os metabólitos secundários desta planta tenham uma ação mais definida sobre esta atividade, tornando-a uma boa candidata para futuras investigações.

Os extratos vegetais utilizados respondem positivamente no controle da eclosão de ovos de NGI por meio dos fitoquímicos presentes. Porém, mais estudos são necessários na identificação das moléculas presentes nos extratos, o que ajudaria a entender os mecanismos de ação envolvidos em seus efeitos sobre as ngi.

Identificação e proporção do gênero de larvas ngi

Foram identificados cinco gêneros de larvas ngi, sendo *Haemonchus* spp., aquele com maior ($p \leq 0,05$) prevalência com 58,0%, continuando *Trichostrongylus* spp., *E. Oesophagostomum* spp., com 25,0 e 15,0%, respectivamente. Os gêneros *Cooperia* spp., and *Nematodirus* spp., alcançaram prevalência de 2,0%. A Tabela 4 mostra as combinações mais eficazes na inibição ($p \leq 0,05$) de ovos, de acordo com o gênero de ngi.

Observa-se que a ação dos extratos aquosos sobre os gêneros encontrados foi positiva, visto que há uma diminuição na eclosão dos ovos. Os extratos de *G. sepium* e *L. leucocephala* a 1,25 mL têm maior efeito inibitório em quatro dos cinco gêneros encontrados; enquanto para *Cooperia* spp., em doses menores de *G. sepium* e *G. ulmifolia* eles obtiveram um efeito maior. Nesse sentido, tem sido relatado que para o gênero *Cooperia* spp, compostos fenólicos e flavonóides têm apresentado atividade ([Son-de Fernex et al., 2015](#)), o que sugere que os compostos fenólicos nestes extratos podem ter um papel importante. a inibição deste gênero.

Tabela 4. Larvas eclodidas de acordo com gênero de nematóides gastrointestinais de ovinos com adição de extratos aquosos de plantas forrageiras em três doses

Extrato aquoso	Dose (mL)	Gêneros de larvas (%)				
		<i>Haemonchus</i> spp.	<i>Oesophagostomum</i> spp.	<i>Trichostrongylus</i> spp.	<i>Cooperia</i> spp.	<i>Nematodirus</i> spp.
<i>G. sepium</i>	0.75	60.2	77.2	27.6	0.0*	0.0
	1.00	48.7	38.3	57.7	50.0	0.0
	1.25	29.9*	26.6*	15.7*	3.8	0.1
<i>L. leucocephala</i>	0.75	80.9	60.5	100.0	100.0	0.0
	1.00	96.8	19.1*	50.4	33.3	0.0
	1.25	16.8*	9.4*	15.2*	3.8*	0.0
<i>G. ulmifolia</i>	0.75	100.0	13.2*	55.2	100.0	0.0
	1.00	55.7	15.7*	25.2*	0.0*	0.0
	1.25	39.6*	6.3*	44.9	53.8	0.1
<i>B. simaruba</i>	0.75	21.4*	28.9*	27.6	100.0	0.0
	1.00	54.1	57.4	100.0	50.0	0.0
	1.25	41.1	31.3	24.2*	46.2*	0.1
Água destilada	0.75	100.0	100.0	100.0	100.0	0.0
	1.00	100.0	100.0	100.0	100.0	0.0
	1.25	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

* Indica diferença estatística ($p \leq 0,05$) dentro de cada coluna.

Os extratos aquosos inibiram em 46% a eclosão de ovos de *Haemonchus contortus*, que é um helmintos altamente patogênico de pequenos ruminantes, com distribuição global. As combinações mais eficientes foram *L. leucocephala*, *G. sepium* a 1,25 mL e *B. simaruba* a 0,75 mL com eficiência de aproximadamente 77%, sendo o resultado relacionado ao conteúdo de taninos condensados presentes. Conforme mencionado por [Vargas-Magaña et al. \(2014\)](#), que apontam que a atividade anti-helmíntica de extratos vegetais em ovos de *Haemonchus contortus* tem sido principalmente relacionada ao conteúdo de taninos condensados e outros metabólitos secundários que contribuem parcial ou totalmente. Especula-se que eles incluem alcalóides, saponinas, compostos fenólicos ([Ferreira et al., 2013](#)) e, mais recentemente, monoterpenóides ([Goel et al., 2020](#)).

É importante destacar o extrato de *B. simaruba*, que em doses menores obteve inibições superiores a 70% em *Haemonchus* spp., *Oesophagostomum* spp., e *Trichostrongylus* spp., por isso é uma fonte de pesquisas.

A ação dos taninos condensados e de outros compostos secundários da planta não é exatamente conhecida e pode variar com o parasita, seu estágio de desenvolvimento e as características bioquímicas das espécies vegetais. No entanto, foi identificado que a membrana externa de ovos e larvas de NGI é rica em lipídios e glicoproteínas onde os taninos podem se ligar, resultando no acúmulo de agregados ([Hoste et al., 2006](#)) que

podem afetar o desenvolvimento das larvas, diminuindo a eclosão do ovo ou sua motilidade (Martínez-Ortíz *et al.*, 2013).

A eficácia obtida no presente estudo nos fornece informações úteis que nos permitem um ponto de partida para estudos voltados para determinação de doses ótimas, identificação e isolamento de moléculas com atividade anti-helmíntica, presentes nos extratos de maior bioatividade no controle da eclosão de ngi.

CONCLUSÃO

Os extratos aquosos de *Gliricidia sepium*, *Leucaena leucocephala*, *Guazuma ulmifolia* e *Bursera simaruba* exibiram atividade anti-helmíntica contra ovos de ngi. No entanto, a dose de 1,25 mL e os extratos de *Leucaena leucocephala* e *Gliricidia sepium* em doses de 1,25 mL foram os mais eficazes. Esses resultados preliminares podem ser uma possível alternativa sustentável para a prevenção e controle da parasitose em ovinos, evidenciando a necessidade de estudos sobre a identificação dos compostos bioativos responsáveis por esta atividade.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Ciência e Tecnologia (CONACyT) pela bolsa concedida ao primeiro autor. Ao projeto Cátedras CONACyT 2181 “Estratégias agroecológicas para segurança alimentar em áreas rurais de Campeche” da Faculdade de Pós-Graduação campus Campeche e ao proprietário da Fazenda “Los Robles”, Sr. Marcos Gamboa.

LITERATURA CITADA

ÁLVAREZ CV, Hernández J, Wing CR. 2007. Eficacia de aserrines para inhibir el desarrollo *in vitro* de larvas de parásitos gastrointestinales de ovinos. *Agronomía Costarricense*. 31(1):71-75. ISSN: 0377-9424. <http://hdl.handle.net/10669/13815>

BOLIGON AA, Feltrin AC, Athayde ML. 2013. Determination of chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of *Guazuma ulmifolia* essential oil. *American Journal of Essential Oils and Natural Products*. 1(1):23-27. ISSN: 2321-9114. <https://www.essencejournal.com/vol1/issue1/pdf/7.1.pdf>

CANUL-SOLÍS J, Alvarado-Cánche C, Castillo-Sánchez L, Sandoval-Gío J, Alayón-Gamboa J, Peñeiro-Vázquez A, Chay-Canul A, Casanova-Lugo F, Ku-Vera J. 2018. *Gliricidia sepium* (Jacq.) Kunth ex Walp. Una especie arbórea multipropósito para la sustentabilidad de los agroecosistemas tropicales. *Agroproductividad*. 11(10):195-200. ISSN: 2594-0252. <https://doi.org/10.32854/agrop.v11i10.1268>

CHAN-PÉREZ JI, Torres-Acosta JFJ, Sandoval-Castro CA, Hoste H, Castañeda-Ramírez GS, 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. *Veterinary Parasitology*. 217:53-60. ISSN: 0304-4017. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.11.001>

FELTRIN AC, Boligon AA, Janovik V, Athayde ML. 2012. Antioxidant potential, total phenolic and flavonoid contents from the stem bark of *Guazuma ulmifolia* Lam. *Asian Journal of Biological Sciences*. 5(5):268-272. ISSN: 1996-3351. <https://doi.org/10.3923/ajbs.2012.268.272>

FERREIRA LE, Castro PMN, Chagas ACS, Franca SC, Beleboni RO. 2013. *In vitro* anthelmintic activity of aqueous leaf extract of *Annona muricata* L. (Annonaceae) against *Haemonchus contortus* from sheep. *Experimental Parasitology*. 134:327-332. ISSN: 0014-4894. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.02.016>

GARCÍA E. 2004. Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen (para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana). Quinta edición. Instituto de Geografía/UNAM. México. Pp. 90. ISBN: 970-32-1010-4. https://www.academia.edu/12911044/Modificaciones_al_sistema_de_clasificaci%C3%B3n_clim%C3%A1tica_de_K%C3%B6ppen_para_adaptarlo_a_las_condiciones_de_la_Rep%C3%BAblica_Mexicana_2004_Enriqueta_Garc%C3%ADa

GOEL V, Das Singla L, Choudhury D. 2020. Cuminaldehyde induces oxidative stress-mediated physical damage and death of *Haemonchus contortus*. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 130:110411. ISSN: 0753-3322. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110411>

GONZÁLEZ-CORTÁZAR M, Zamilpa A, López-Arellano ME, Aguilar-Marcelino L, Reyes-Guerrero DE, Olazarán-Jenkins S, Ramírez-Vargas G, Olmedo-Juárez A, Mendoza-de Gives P. 2018. *Lysiloma acapulcensis* leaves contain anthelmintic metabolites that reduce the gastrointestinal nematode egg population in sheep faeces. *Comparative Clinical Pathology*. 27:189-197. ISSN: 1618-565X. <https://doi.org/10.1007/s00580-017-2577-1>

HOLSBACK L, Ramsey LPA, Sanches SC, Kremer NG, Conde G, Vinícius GH, Balestrieri JV, Tomazella L. 2016. Anthelmintic efficiency of doramectin, fenbendazole, and nitroxynil, in combination or individually, in sheep worm control. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 23(3):353-358. ISSN: 1984-2961. <http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612016025>.

HOSTE H, Martínez-Ortiz-De-Montellano C, Manolaraki F, Brunet S, Ojeda-Robertos N, Fourquaux I, Torres-Acosta JFJ, Sandoval-Castro CA. 2012. Direct and indirect effects of bioactive tannin-rich tropical and temperate legumes against nematode infections. *Veterinary Parasitology*. 186 (1-2):18-27. ISSN: 0304-4017. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.11.042>

HOSTE H, Jackson F, Athanasiadou S, Thamsborg SM, Hoskin SO. 2006. The effects of tannin-rich plants on parasitic nematodes in ruminants. *TRENDS in Parasitology*. 22(6):253-261. ISSN: 1471-4922. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2006.04.004>

MAKKAR HPS, BECKER K. 1993. Vanillin-HCl method for condensed tannins: effect of organic solvents used for extraction of tannins. *Journal of Chemical Ecology*. 19:613-621. ISSN: 1573-1561. <http://doi.org/10.1007/BF00984996>

MAKKAR HPS, Blummel M, Borowy NK, Becker K. 1993. Gravimetric determination of tannins and their correlations with chemical and protein precipitation methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 61:161-165. ISSN: 1097-0010. <http://doi.org/10.1002/jsfa.2740610205>

MARTÍNEZ-ORTÍZ de MC, Arroyo-López C, Fourquaux I, Torres-Acosta JFJ, Sandoval-Castro CA, Hoste H. 2013. Scanning electron microscopy of *Haemonchus contortus* exposed to tannin-rich plants under *in vivo* and *in vitro* conditions. *Experimental Parasitology*. 133 (3):281-286. ISSN: 0014-4894. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2012.11.024>

MEDINA P, Guevara F, La OM, Ojeda N, Reyes E. 2014. Resistencia antihelmíntica en ovinos: una revisión de informes del sureste de México y alternativas disponibles para el control de nemátodos gastrointestinales. *Pastos y Forrajes*. 37 (3):257-263. ISSN: 0864-0394. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03942014000300001

MONDRAGÓN-ANCELMO J, Olmedo-Juárez A, Reyes-Guerrero DE, Ramírez-Vargas G, Ariza-Román AE, López-Arellano ME, Gives PM, Napolitano F. 2019. Detection of Gastrointestinal Nematode Populations Resistant to Albendazole and Ivermectin in Sheep. *Animals*. 9(10):775. ISSN: 2076-2615. <http://doi.org/10.3390/ani9100775>

MORALES G, Guillen TA, Pinho A, Pino L, Barrios F. 2010. Clasificación por el método Famacha y su relación con el valor de hematocrito y recuento de H.P.G. de ovinos criados en condiciones de pastoreo. *Zootecnia Tropical*. 28(4):545-556. ISSN: 0798-7269. <http://www.scielo.org.ve/pdf/zt/v28n4/art11.pdf>

NIEC R. 1968. Cultivo e identificación de larvas infectantes de nematodos gastroentéricos del bovino y ovino. Manual Técnico 3. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Buenos Aires, Argentina. Pp. 37. <http://helminto.inta.gov.ar/Niec/Cultivo%20e%20Identificaci%C3%B3n%20de%20Larvas%20Infectantes%20de.pdf>

NORMA Oficial Mexicana. NOM-024-ZOO-1995. Especificaciones y características zoosanitarias para el transporte de animales, sus productos y subproductos, productos químicos, farmacéuticos, biológicos y alimenticios para uso en animales o consumo por éstos. http://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/202301/NOM-024-ZOO-1995_161095.pdf

OLIVEIRA FA, Costa JML, Lima SA, Silva RC, Ribeiro NSM, Mesquista WCJ, Rocha QC, Tangerina MPM, Villegas W. 2017. Anthelmintic activity of plant extracts from Brazilian savanna. *Veterinary Parasitology*. 236:121-127. ISSN: 0304-4017. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.02.005>

PUERTO AM, Arece GJ, López LY, Roche Y, Molina M, Sanavria A, da Fonseca AH. 2014. Efecto *in vitro* de extractos acuosos de *Moringa oleifera* y *Gliricida sepium* en el desarrollo de las fases exógenas de estrongídeos gastrointestinales de ovinos. *Revista de Salud Animal*. 36(1):28-34. ISSN: 0253-570X. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2014000100005

RIVERO-PÉREZ N, Jaramillo-Colmenero A, Peláez-Acero A, Rivas-Jacobo M, Ballesteros-Rodea G, Zaragoza-Bastida A. 2019. Actividad antihelmíntica de la vaina de *Leucaena leucocephala* sobre nemátodos gastrointestinales de ovinos (*in vitro*). *Abanico Veterinario*. 9 (95):1-9. ISSN: 2448-6132. <https://doi.org/10.21929/abavet2019.95>.

RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ R, Mendoza-de-Gives P, Aguilar-Marcelino L, López- Arellano ME, Gamboa-Angulo M, Rosas-Saito GH, Reyes-Estébanez M, García-Rubio VG. 2018. *In vitro* lethal activity of the nematophagous fungus *Clonostachys rosea* (Ascomycota: Hypocreales) against nematodes of five different taxa. *BioMed Research International* 2018:3501827. ISSN: 2314-6133. <https://doi.org/10.1155/2018/3501827>

RODRÍGUEZ-VIVAS RI, COB-GALERA, LA. 2005. Técnicas Diagnósticas en Parasitología Veterinaria. Tercera edición. 2da. Edición. Ediciones de la Universidad Autónoma de Yucatán. Mérida, México. Pp. 41-51. ISBN: 9709680458, <http://bibliotecasibe.ecosur.mx/sibe/book/000049652>

RODRÍGUEZ-VIVAS RI, Grisi L, Pérez LAA, Silva VH, Torres-Acosta JFJ, Sánchez FH, Romero SD, Rosario RC, Saldierna F, García CD. 2017. Potential economic impact assessment for cattle parasites in México. Review. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*. 8(1):61-74. ISSN: 2448-6698. <http://dx.doi.org/10.22319/rmcp.v8i1.4305>

SÁNCHEZ A, FARIA MJ. 2013. Efecto de la madurez de la planta en el contenido de nutrientes y la digestibilidad en una asociación *Cenchrus ciliaris*-*Leucaena leucocephala*. *Zootecnia Tropical*. 31 (1):16-23. ISSN: 0798-7269. [http://usfx.bo/nueva/vicerrectorado/citas/AGRARIAS_7/Zootecnia/Gutierrez,%20A.%20J.%20S.%20\(2014\).%20Efecto%20de%20la.pdf](http://usfx.bo/nueva/vicerrectorado/citas/AGRARIAS_7/Zootecnia/Gutierrez,%20A.%20J.%20S.%20(2014).%20Efecto%20de%20la.pdf)

SAS Institute. 2012. Statistical Analysis Software SAS/STAT®, versión 9.0.2, Cary, North Carolina, USA: SAS Institute Inc., ISBN: 978-1-60764-599-3. http://www.sas.com/en_us/software/analytics/stat.html#

SON-DE FERNEX EV, Alonso DMA, Mendoza GP, Valles MB, Zamilpa A, González CM. 2016. Ovicidal activity of extracts from four plant species against the cattle nematode *Cooperia punctata*. *Veterinaria México OA*. 3(2):1-14. ISSN: 2448-6760. <https://doi.org/10.21753/vmoa.3.2.365>

SON-DE FERNEX EV, 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. ISSN: 0304-4017. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.10.005>

SON-DE FERNEX EV, Alonso-Díaz MA., Valles-de la Mora B, Capetillo-Leal CM. 2012. *In vitro* anthelmintic activity of five tropical legumes in the exsheathment and motility of *Haemonchus contortus* infective larvae. *Experimental Parasitology*. 131:413-418. ISSN: 0014-4894. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2012.05.010>

TORRES-ACOSTA JFJ, González-Pech PG, Ortiz-Ocampo GI, Rodríguez-Vivas I, Tun-Garrido J, Ventura-Cordero J, Castañeda-Ramírez GS, Hernández-Bolio GI, Sandoval-Castro CA, Chan-Pérez JI, Ortega-Pacheco A. 2016. Revalorización del bosque tropical caducifolio para la producción de rumiantes. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 19:73-80. ISSN: 1870-0462. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=93945700009>

VARGAS-MAGAÑA JJ, Torres-Acosta JFJ, Aguilar-Caballero AJ, Sandoval-Castro CA, Hoste H, Chan-Pérez JI. 2014. Anthelmintic activity of acetone-water extracts against *Haemonchus contortus* eggs: interactions between tannins and other plant secondary compounds. *Veterinary Parasitology*. 206:322-327. ISSN: 0304-4017. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.10.008>

VIEIRA SAC, Oliveira SF, Goncalves LH, Dias DSG, Soares UR., Reis DÊ, Branco A, Viana CK, Mauricio DJ, Borges BM, Lima CS, Moreira BMJ. 2018. *In vitro* ovicidal and larvicidal activities of some saponins and flavonoids against parasitic nematodes of goats. *Parasitology*. 145(14):1884-1889. ISSN: 1469-8161. <http://doi.org/10.1017/S0031182018000689>

VINUEZA S, Crozzoli R, Perichi G. 2006. Evaluación *in vitro* de extractos acuosos de plantas para el control del nemátodo agallador *Meloidogyne incognita*. *Fitopatología de Venezuela*. 19:26-31. ISSN: 0798-0035. <https://www.researchgate.net/publication/48224786>