

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL E PASTAGENS**

**TANINOS CONDENSADOS DE FABACEAS NATIVAS DA  
CAATINGA E SEU POTENCIAL NA ATIVIDADE ANTI-  
HELMÍNTICA EM CAPRINOS**

Autor: Marco Hamilton Barros da Costa Filho  
Orientadora: Profa. Dra. Dulciene Karla de Andrade Silva

GARANHUNS  
PERNAMBUCO – BRASIL  
2016

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL E PASTAGENS**

**TANINOS CONDENSADOS DE FABACEAS NATIVAS DA  
CAATINGA E SEU POTENCIAL NA ATIVIDADE ANTI-  
HELMÍNTICA EM CAPRINOS**

Autor: Marco Hamilton Barros da Costa Filho  
Orientadora: Profa. Dra. Dulciene Karla de Andrade Silva

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM CIÊNCIA ANIMAL E PASTAGENS, do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e Pastagens da Universidade Federal Rural de Pernambuco - Área de Concentração: Produção Animal.

GARANHUNS  
PERNAMBUCO – BRASIL  
2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE  
Biblioteca Setorial - UAG, Garanhuns-PE, Brasil

C837t Costa, Filho Marco Hamilton Barros da  
Taninos condensados de fabaceas nativas da caatinga e seu  
potencial na atividade anti-helmíntica em caprinos/ Marco  
Hamilton Barros da Costa Filho. – 2016.  
**110 f.** : il.  
Orientadora: Dulciene Karla de Andrade Silva.  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de  
Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal  
e Pastagens, Garanhuns, BR-PE, 2016.  
Inclui referências.

1. Caprinos 2. Taninos condensados 3. Fabaceas I. Silva,  
Dulciene Karla de Andrade, orient. II. Título

CDD 636.3089

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL E PASTAGENS**

**TANINOS CONDENSADOS DE FABACEAS NATIVAS DA  
CAATINGA E SEU POTENCIAL NA ATIVIDADE ANTI-  
HELMÍNTICA EM CAPRINOS**

Autor: Marco Hamilton Barros da Costa Filho  
Orientadora: Profa. Dra. Dulciene Karla de Andrade Silva  
Coorientadores: Dr. Kléber Régis Santoro  
Dr. Harley Dean Naumann

TITULAÇÃO: Mestre em Ciência Animal e Pastagens

Área de Concentração: Produção Animal

**APROVADO EM: 29 de julho de 2016**

---

**Dr.<sup>a</sup>. Gílcia Aparecida de Carvalho**  
**(UFRPE/UAG)**

---

**Dr. Evaristo Jorge Oliveira De Souza**  
**(UFRPE/UAST)**

---

**Prof. Dra. Dulciene Karla de Andrade Silva**  
**UFRPE/UAG**  
**(Orientadora)**

A Ti meu Deus,

Toda honra e toda glória, agora e para sempre.

## **DEDICO**

Aos meus pais,

Marco Hamilton Barros da Costa e Maria Aparecida de Melo,  
exemplos de amor e dignidade, por toda entrega ao longo de minha  
caminhada e por sempre acreditarem em meus sonhos.

## **OFEREÇO**



## **BIOGRAFIA**

MARCO HAMILTON BARROS DA COSTA FILHO, filho de Maria Aparecida Melo Costa e Marco Hamilton Barros da Costa, nasceu em Arapiraca estado de Alagoas, ao dia 11 de novembro de 1990. Coursou o ensino fundamental no Colégio São Lucas e o ensino médio no Colégio Nossa Senhora do Bom Conselho, em Arapiraca. No ano de 2009 ingressou no curso dos seus sonhos, Zootecnia. Recebeu o grau de Zootecnista no ano de 2013 conferido pela Universidade Federal de Alagoas. Em agosto de 2014 galgando mais um degrau foi aprovado no Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e Pastagens da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Garanhuns. Submetendo-se a banca de defesa da sua dissertação para obtenção do título de mestre em julho de 2016.

## SUMÁRIO

|  | Página    |
|--|-----------|
| LISTA DE FIGURAS .....   | 10        |
| LISTA DE TABELAS.....  | 11        |
| TABELAS DO APÊNDICE .....  | 13        |
| FIGURAS DO APÊNDICE.....   | 14        |
| ANEXO .....  | 15        |
| <b>1. INTRODUÇÃO GERAL .....</b>   | <b>18</b> |
| <b>2. REVISÃO DE LITERATURA .....</b>  | <b>20</b> |
| 2.1 Plantas como fitoterápicos.....  | 20        |
| 2.2 Metabolismo secundário de plantas.....   | 21        |
| 2.2.1 Compostos fenólicos.....   | 22        |
| 2.2.2 Caracterização dos taninos.....  | 23        |
| 2.3. Atividade biológica de Taninos Condensados (TC) .....                         | 25        |
| 2.4. Resistência Anti-helmíntica e Controle.....                                   | 27        |
| 2.5. Taninos condensados e atividade anti-helmíntica.....                          | 29        |
| 2.6. Caracterização das espécies botânicas estudadas com potencial taninífero..... | 34        |
| 2.6.1 Caracterização da <i>Mimosa tenuiflora</i> (Wild.) Poiret .....              | 34        |
| 2.6.2 Caracterização da <i>Anadenanthera macrocarpa</i> (Benth.) Brenan.....       | 37        |
| 2.6.3 Caracterização da <i>Poincianella pyramidalis</i> (Tul.).....                | 38        |
| <b>3. REFERÊNCIAS.....</b>   | <b>41</b> |
| <b>4. OBJETIVOS GERAIS.....</b>  | <b>47</b> |
| 4.1 Objetivos específicos.....   | 47        |



|           |  |           |
|-----------|--|-----------|
| <b>5.</b> | <b>CAPÍTULO I.....</b>   | <b>48</b> |
| 5.1       | QUANTIFICAÇÃO TANINÍFERA DE FABACEAS NATIVAS DA CAATINGA <i>Mimosa tenuiflora</i> (Wild) Poiret., <i>Anadenanthera macrocarpa</i> (Benth) Brenan. E <i>Poincianella pyramidalis</i> (Tul.) |           |
| 5.2       | RESUMO.....  | 49        |
| 5.3       | ABSTRACT.....  | 50        |
| 5.4       | Introdução.....  | 51        |
| 5.5       | Material e Métodos.....  | 53        |
| 5.6       | Resultado e Discussão .....  | 57        |
| 5.7       | Conclusão.....   | 63        |
| 5.8       | Referências.....   | 64        |
| 5.9       | <b>CAPÍTULO II.....</b>  | <b>67</b> |
| <b>6.</b> | <b>EFICÁCIA IN VITRO DO EXTRATO PURIFICADO DE TANINOS CONDENSADOS DE <i>Mimosa tenuiflora</i> (Wild) Poiret. NO CONTROLE ANTI-HELMÍNTICO EM CAPRINOS</b>                                   |           |
| 6.1       | ABSTRACT.....  | 68        |
| 6.2       | RESUMO.....  | 69        |
| 6.3       | Introdução.....  | 70        |
| 6.4       | Material e Métodos.....  | 72        |
| 6.5       | Resultado e Discussão .....  | 75        |
| 6.6       | Agradecimentos.....  | 81        |
| 6.7       | Referências Bibliográficas.....  | 82        |
| 7         | Apêndice I.....  | 84        |
| 8         | Apêndice II.....   | 92        |

## LISTA DE FIGURAS

|   | Página |
|---|--------|
| Figura 1. Via do Ácido Chiquímico - rota biosintética de compostos fenólicos e alguns Alcalóides.....   | 22     |
| Figura 2. Estrutura Química dos Taninos Hidrolisáveis.....  | 24     |
| Figura 3. Estrutura química do Tanino Condensado.....   | 25     |
| Figura 4. Curvas de calibração utilizadas para estimar a concentração da fração de taninos condensados solúveis (ECT) através do método do HCl-Butanol.....   | 59     |
| Figura 5. Curvas de calibração utilizadas para estimar a concentração das frações de taninos condensados ligados à proteína (PBCT) e fibra (FBCT) através do método HCl-Butanol .....   | 60     |
| Figura 6. Curvas de calibração utilizadas para estimar a concentração de taninos condensados totais através do método dos Fenóis Precipitáveis por Proteína.....  | 74     |
| Figura 7. Larva de <i>Haemonchus contortus</i> .....  | 75     |
| Figura 8. Ovo de estrogilídeo.....  | 75     |
| Figura 9. Impossibilidade de desembainhamento devido à falta de integridade larval.....   | 77     |
| Figura 10. Curva de regressão do comportamento da eficácia do extrato purificado de tanino condensado de <i>Mimosa tenuiflora</i> (Willd) Poiret. na inibição do desenvolvimento larval de nematódeos gastrintestinais de caprinos.....       | 78     |
| Figura 11. Curva de regressão do comportamento do extrato purificado de tanino condensado de <i>Mimosa tenuiflora</i> (Willd) Poiret. acrescido com PEG na inibição do desenvolvimento larval de nematódeos gastrintestinais de caprinos..... | 78     |

## LISTA DE TABELAS

|  | Página |
|--|--------|
| Tabela 1. Experimentos <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> * realizados em ovinos e caprinos para avaliação da atividade anti-helmíntica de plantas ricas em taninos condensados.....   | 32     |
| Tabela 2. Composição químico-bromatológica em g/kg das espécies estudadas com seus respectivos estratos.....   | 58     |
| Tabela 3. Teores de taninos condensados totais em g/kg MS obtidos segundo a metodologia do HCl-Butanol.....  | 60     |
| Tabela 4. Frações de taninos condensados em g/kg de fabáceas nativas da caatinga, através da metodologia do HCl-Butanol, conforme as frações da planta.....  | 62     |
| Tabela 5. Percentual de eficácia média $\pm$ DP do extrato de taninos condensados de <i>Mimosa tenuiflora</i> (Willd) Poiret. na inibição do desenvolvimento larval de <i>Haemonchus contortus</i> e valor de DL de 50% de eficácia..... | 76     |

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

**ECT** – Tanino Condensado Extraível;

**EE** – Extrato Etéreo;

**FDN** – Fibra em Detergente Neutro;

**FDA** – Fibra em Detergente Ácido;

**FBCT** – Taninos Condensados ligados a Fibra Total;

**g** - gramas

**IEL** – Inibição de Eclodibilidade Larval;

**IML** – Inibição de Migração Larval;

**Kg** – Quilogramas;

**L1** – Larva de primeiro estágio;

**L3** – Larva de terceiro estágio;

**mg** – miligramas;

**mL** – mililitros;

**MS** – Matéria Seca;

**OPG** – Ovos Por Gramas de Fezes;

**PB** – Proteína Bruta;

**PEG** – Polietilenoglicol;

**PBCT** – Tanino Condensado Ligado a Proteína Bruta;

**RMD** – Resistência Múltipla à Drogas;

**TDL** – Teste de Desenvolvimento Larval;

**TC** – Tanino Condensado;

**TH** – Tanino Hidrolisável;

## TABELAS DO APÊNDICE I

Página

|  |    |
|--|----|
| Tabela 1A. Teores de taninos condensados totais em g/kg MS obtidos segundo a metodologia do HCl-Butanol.....   | 85 |
| Tabela 2A. Teores das frações de taninos condensados em g/kg obtidos através da metodologia do HCl-Butanol.....  | 86 |
| Tabela 3A. Absorbâncias das amostras das frações de taninos condensados solúveis, ligado a proteína e fibra (Método Butanol-HCl).....  | 87 |
| Tabela 4A. Absorbâncias das diluições para obtenção das curvas de calibração para leitura das frações de taninos condensados solúveis (Método Butanol-HCl).....                  | 88 |
| Tabela 5A. Absorbâncias das diluições para obtenção das curvas de calibração para leitura das frações de taninos condensados ligado a proteína e fibra (Método Butanol-HCl)..... | 89 |
| Tabela 6A. Absorbâncias das diluições para obtenção das curvas de calibração para leitura da fração de taninos condensados totais (Método PPP).....                              | 90 |
| Tabela 7A. Absorbâncias das amostras das frações de taninos condensados total (Método PPP).....  | 90 |
| Tabela 8A: Número de ovos por gramas de fezes incubados para TDL e o efetivo de larvas obtidas de cada ensaio.....   | 91 |

## FIGURAS DO APÊNDICE II

|   | Página |
|---|--------|
| Figura 1A: Coleta da fração folha com hastes de <i>Mimosa tenuiflora</i> (Wild) Poiret.....         | 93     |
| Figura 2A: Coleta da fração casca de <i>Mimosa tenuiflora</i> (Wild) Poiret.....                    | 93     |
| Figura 3A: Coleta da fração folha com hastes de <i>Anadenanthera macrocarpa</i> (Benth) Brenan..... | 94     |
| Figura 4A: Coleta da fração casca de <i>Anadenanthera macrocarpa</i> (Benth) Brenan.....            | 94     |
| Figura 5A: Coleta da fração folha com hastes da <i>Poincianella pyramidalis</i> Tul.....            | 95     |
| Figura 6A: Coleta da fração casca da <i>Poincianella pyramidalis</i> Tul .....                      | 95     |
| Figura 7A: Coleta de fezes na ampola retal de caprinos.....   | 96     |
| Figura 8A: Recipientes de coprocultura.....   | 96     |
| Figura 9A: Coproculturas com tratamentos, em momento de migração larval.....                        | 96     |

## ANEXO

|                               | Página |
|-------------------------------|--------|
| Normas do Artigo cap. I.....  | 98     |
| Normas do Artigo cap. II..... | 104    |

## RESUMO

COSTA FILHO, Marco Hamilton Barros. **Taninos condensados de fabaceas nativas da caatinga e seu potencial na atividade anti-helmíntica em caprinos.** (Mestrado em Ciência Animal e Pastagens) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Garanhuns, PE.

As infecções por nematódeos gastrintestinais correspondem a uma das principais causas limitantes na produção de pequenos ruminantes em todo o mundo. Na busca por novas alternativas de controle efetivo desses parasitos, a fitoterapia se apresenta como um setor promissor na tentativa de reduzir a utilização de tratamentos químicos. Tornando o estudo de plantas com potencial taninífero uma alternativa ao controle anti-helmíntico. Uma vez esses taninos identificados e isolados, torna-se cada vez mais concreto seu real potencial na atividade anti-helmíntica. Neste sentido, escolheu-se as espécies jurema preta (*Mimosa tenuiflora* (Willd) Poiret), angico vermelho (*Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan) e catingueira (*Poincianella pyramidalis* Tul.) para caracterização químico-bromatológica e quantificação dos teores de taninos condensados nas diferentes frações da planta. Estas fabaceas foram coletadas em área de Caatinga preservada do município de Sertânia na região Semiárida de Pernambuco. Foram coletadas amostras de folhas com haste e casca de cada espécie, e para quantificação dos taninos condensados das fabaceas em estudo foi utilizado o método do butanol-HCl. Os valores obtidos foram analisados através de estatística descritiva. Nesse sentido, aliando a obtenção do extrato purificado de tanino condensado, realizou-se ensaios anti-helmínticos por meio de testes de desenvolvimento larval (TDL) *in vitro* de material fecal coletado de caprinos da raça Saanen, naturalmente infectados, sob administração das concentrações nos tratamentos (37,5; 75; 150; 300 e 350 mg/mL) em quatro repetições para cada tratamento de extrato purificado de taninos condensados, acrescidos de tratamento controle, positivo e negativo, com cloridrato de levamisol na concentração de 7,5 mg/mL e água destilada, respectivamente. A *Mimosa tenuiflora* (Willd) Poiret. se destacou entre as fabaceas nativas com a maior concentração de taninos totais, para todas as frações da planta. Na atividade anti-helmíntica, apresentou efeito significativo, tornando-se uma excelente alternativa no controle de nematódeos gastrintestinais em pequenos ruminantes.



## ABSTRACT

COSTA FILHO, Hamilton Marco Barros. **Native fabaceae of condensed tannins of the caatinga and its potential for anthelmintic activity in goats.** (Master of Animal Science and Pastures) - Rural Federal University of Pernambuco, Academic Unit of Garanhuns, PE.

The gastrointestinal helminth infections represent one of the main causes in limiting the production of small ruminants around the world. In the search for new alternatives for effective control of these gastrointestinal nematodes, phytotherapy is presented as a promising sector in an attempt to reduce the use of chemical treatments. Making the study of plants with the potential tanniniferous an alternative anthelmintic control. Once these tannins identified and isolated, it becomes increasingly more practical in its real potential anthelmintic activity. In this sense, we chose species Black Jurema (*Mimosa tenuiflora* (Willd) Poiret), red angico (*Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan) and catingueira (*Poincianella pyramidalis* Tul.) For chemical-bromatological characterization and quantification of the condensed tannin levels in the different fractions of the plant. These Fabaceae were collected in Caatinga area preserved the Sertânia municipality in semiarid region of Pernambuco. Leaf samples were collected with stem and bark of each species and quantification of condensed tannins in the Fabaceae study used the butanol-HCl method. Data were analyzed using descriptive statistics. In this sense, combining obtaining the purified extract of condensed tannin, held anthelmintics trials through larval development tests (TDL) in vitro fecal material collected from Saanen goats naturally infected under management of concentrations in treatments (37.5, 75, 150, 300 and 350 mg/ml) in four replicates each of purified extract of tannins, together with control treatment, positive and negative, with levamisole hydrochloride at a concentration of 7.5 mg / ml and distilled water, respectively. *Mimosa tenuiflora* (Willd) Poiret. He stood between native Fabaceae with the highest total concentration of tannin, in all fractions of the plant. In anthelmintic activity, significant effect, making it an excellent alternative for controlling gastrointestinal nematodes in small ruminants.

## 1. INTRODUÇÃO

Patologias ocasionadas por nematódeos gastrintestinais em pequenos ruminantes são responsáveis por consideráveis impactos econômicos na pecuária mundial, principalmente em países tropicais como o Brasil. Estas parasitoses acarretam elevações significativas no custo de produção, representados pela morte de animais jovens, baixo desempenho reprodutivo e ganho em peso reduzido.

Usualmente, o controle dos nematódeos gastrintestinais é realizado com a administração de anti-helmínticos sintéticos. Contudo, os custos dos medicamentos, a alta probabilidade de resíduos no produto final de origem animal e o crescente desenvolvimento de resistência à maioria dos anti-helmínticos comercializados, tornaram imprescindível a busca por controles alternativos desses parasitos (Athanasiadou *et al.*, 2008; Max *et al.*, 2009).

Como meio alternativo, compostos químicos de plantas com fatores bioativos no controle do parasitismo gastrintestinal estão sendo pesquisadas, destacando-se o uso de seus diferentes constituintes, aplicados em estudos *in vitro* e *in vivo* contra espécies de nematódeos gastrintestinais de ruminantes (Almeida *et al.*, 2007). Estes constituintes mais amplamente encontrados nos vegetais são os compostos polifenólicos, ou taninos condensados pertencentes ao grupo dos compostos secundários sintetizados por alguns vegetais, e seus efeitos sobre a resistência do hospedeiro ao parasitismo têm sido os mais estudados (Hoste *et al.*, 2006).

Os taninos possuem um considerável efeito anti-helmíntico, podendo ser utilizados em controles parasitários. Essa ação sobre os nematódeos gastrintestinais fornece credibilidade para estudos de exploração científico-comercial destes compostos químicos

com aplicabilidade na criação de caprinos e ovinos no Brasil e no mundo (Minho *et al*; 2008).

Estudos neste âmbito, estão em ascensão, tendo em vista o real potencial que os taninos condensados oferecem. Em busca do entendimento das melhores concentrações e da complexa atuação dos taninos condensados na nutrição e sanidade de animais ruminantes, pesquisas desta vertente surgem como promissoras.

Objetivou-se com este trabalho quantificar e caracterizar as frações de taninos condensados de três fabáceas nativas da Caatinga de alto teor taninífero: Jurema preta (*Mimosa tenuiflora* (Willd) Poiret), Angico vermelho (*Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan) e Catingueira (*Poincianella pyramidalis* (Tul.)), e utilizar especificamente o extrato purificado de tanino condensado da jurema preta em testes *in vitro* para a análise de sua efetividade na inibição do desenvolvimento larval de nematódeos gastrintestinais que acometem pequenos ruminantes, possibilitando a avaliação preliminar da existência de propriedades anti-helmínticas.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Plantas como fitoterápicos

O uso de plantas medicinais utilizadas no controle de patologias, é sem dúvida, um dos mais antigos na terapêutica, e está intimamente relacionada com a própria evolução do homem. Sendo que, para utilizarem as plantas como medicamentos, os homens primitivos valiam-se de suas próprias experiências empíricas de acerto e erro, e da observação do uso de plantas pelos animais (Oliveira, 2006).

Silva (2009) enfatizou que os produtos orgânicos têm conquistado cada vez mais espaço na agropecuária, pois o uso, isolado ou associado, de substâncias naturais, gera produtos com menos resíduos no produto final do que os advindos das drogas sintéticas administradas nos rebanhos, além de maior valorização do mercado.

Apesar de muitas plantas já terem sido descritas como possuidoras de atividade anti-helmíntica, poucas foram avaliadas cientificamente. Algumas pesquisas científicas conduzidas com diferentes espécies vegetais demonstram propriedades antiparasitárias em ruminantes (Minho *et al.*, 2008; Alonso-Díaz *et al.*, 2011; Oliveira *et al.*, 2011). Makkar, (2007) confirma a bioatividade de plantas no controle de nematódeos gastrointestinal em pequenos ruminantes, fazendo uso de extratos de folhas, frutos, ou sementes oriundas de diferentes regiões do mundo e obtidas com diferentes técnicas.

Além da busca por medicamentos fitoterápicos e da tendência de produção orgânica, existe também a problemática da resistência apresentada pelos nematódeos aos anti-helmínticos disponíveis em todo o mundo (Melo *et al.*, 2003).

Sendo assim, Chagas (2004) afirma que a aplicação de extratos vegetais possa causar um desenvolvimento bem mais lento da resistência, como também atingir somente espécies alvo, serem biodegradáveis e não causarem impactos agroecológicos.

Aliado ao interesse em práticas agrícolas sustentáveis mostra-se um impulso para o desenvolvimento de sistemas de controle de patologias animais que combinam métodos terapêuticos naturais e utilização mínima de drogas sintéticas, levando à pesquisa ao estudo de plantas contendo taninos condensados (TC) (Naumann *et al.* 2013).

Logo, esta alternativa com fitoterápicos pode contribuir para aumentar os lucros da criação, uma vez que, reduz o uso de anti-helmínticos convencionais, além de estender a vida útil dos produtos químicos disponíveis (Vieira *et al.*, 1999).

## **2.2. Metabolismo secundário de plantas**

O metabolismo representa o conjunto de reações químicas que está sempre ocorrendo em cada célula. Os compostos químicos que são formados, degradados ou transformados recebem o nome de metabólitos (Simões *et al.*, 2010), que por sua vez podem ser divididos em metabólitos primários e metabólitos secundários (Waksmundzka-Hajnos *et al.*, 2008).

Entende-se por metabólitos secundário de plantas, o conjunto de processos metabólicos que originam compostos que não possuem uma distribuição universal nos vegetais, por não serem necessários a todas as plantas (Peres, 2004). A todo este conjunto metabólico costuma-se definir como metabolismo secundário, cujos produtos, embora não necessariamente essenciais para o organismo produtor, garantem vantagens para sua sobrevivência e para a perpetuação da espécie em seu ecossistema (Simões *et al.*, 2010).

Existem três grandes grupos de metabólitos secundários: compostos fenólicos, terpenos e alcalóides utilizados na defesa contra estresses bióticos e abióticos (Zeiger, 2009). Os compostos fenólicos são derivados do ácido chiquímico (fig. 1).

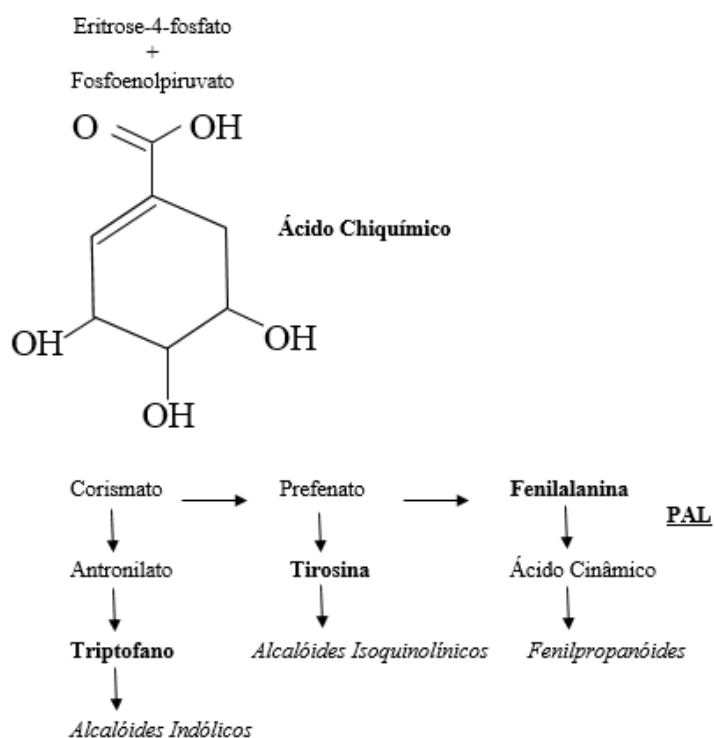


Figura 1: Via do Ácido Chiquímico - rota biosintética de compostos fenólicos e alguns alcalóides. Fonte: Peres (2004).

### 2.2.1. Compostos fenólicos

Compostos fenólicos são biossintetizados nas plantas por meio de diferentes rotas, razão pela qual constituem um grupo bastante heterogêneo do ponto de vista metabólico (Silva, 2013), e pertencem a uma classe de compostos com estruturas bastante diversificadas que possuem pelo menos um anel aromático no qual, apresentam ao menos um hidrogênio que seja substituído por um grupamento hidroxila (OH-) (Carvalho *et al.*, 2002). Ângelo & Jorge (2007) enfatizaram que a ligação das hidroxilas com o anel aromático lhes confere ainda poder antioxidante. Com destaque para os taninos, que de acordo com sua estrutura química podem se apresentar em condensados ou hidrolisáveis (Hoste; Torres-Acosta, 2011).

### 2.2.2. Caracterização dos taninos

Taninos são compostos fenólicos derivados do metabolismo secundário de plantas. Estes compostos tendem a se solubilizar em água e podem estar ligados a açúcares. Tharayil *et al.*, (2011), relatam que eles representam um dos mais abundantes compostos polifenólicos, sendo a lignina dentre estes compostos em maior incidência.

Em geral, alta temperatura, escassez de água, luminosidade e solos com déficit nutricional aumentam a concentração desses metabólitos. Frutos *et al.* (2004) inferiram que durante o crescimento, as plantas produzem muita biomassa e poucas fontes de cadeias de carbono estão disponíveis para a síntese de compostos fenólicos, mais especificamente os taninos. Entretanto, quando o crescimento é reduzido, o excesso de carbono fica disponível para a síntese destes metabólitos. Os taninos, normalmente, encontram-se nos vacúolos das células onde não interferem no metabolismo da planta, agindo apenas com a ruptura da célula, o que pode ser causado por algum choque mecânico, como a mastigação de animais (Min & Hart., 2003).

Alguns dos metabólitos secundários, como os compostos fenólicos ou polifenólicos, apresentam características potencialmente benéficas. Singh *et al.* (2003), destacaram que suas potencialidades são amplas desde a prevenção de doenças e proteção da estabilidade do genoma, agindo como antioxidante, antimutagênico, anticarcinogênico, anti-inflamatória (Minho *et al.*, 2008), como também antimicrobiana e sua mais nova potencialidade se dá por sua efetividade na atividade anti-helmíntica.

Os taninos são comumente classificados em hidrolisáveis e condensados, de acordo com sua estrutura química. Os taninos hidrolisáveis (TH) (Figura. 2) são polímeros de ácido gálico ou ácido elágico e estão normalmente presentes em baixas concentrações nas plantas, podendo sofrer facilmente hidrólise por bases, ácidos e

esterases (Beelen *et al.*, 2006). Alguns desses metabólitos são tóxicos e estão associados a hemorragias gastro-entéricas e necrose do fígado e rins, principalmente em animais não-ruminantes.

Enquanto que em ruminantes, segundo Makkar *et al.* (2007) os TH quando degradados pelos microrganismos ruminais originam compostos potencialmente tóxicos. Provavelmente, a toxicidade é causada pela absorção dos produtos da degradação, ocasionando a alta concentração de fenóis no sangue, maior do que a capacidade de detoxificação do fígado.

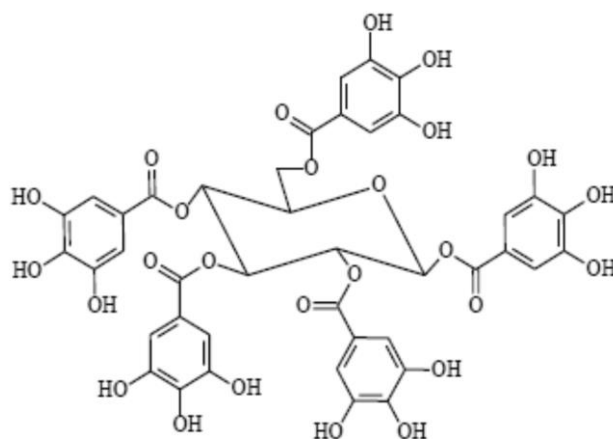


Figura 2: Estrutura Química dos Taninos Hidrolisáveis. Fonte: Oliveira *et al.* (2011).

Os taninos condensados (TC) ou proantocianidinas são os taninos mais comumente encontrados em leguminosas forrageiras, árvores e arbustos (Min *et al.*, 2003) (Figura. 3). Estruturalmente, são polímeros formados por unidades de flavan-3-ol (catequina) ou flavan-3,4-diol (epicatequina) unidas por ligações carbono-carbono, o que as tornam não suscetíveis à degradação enzimática anaeróbica. Portanto, são relativamente estáveis no trato digestório dos ruminantes e raramente tóxicos.



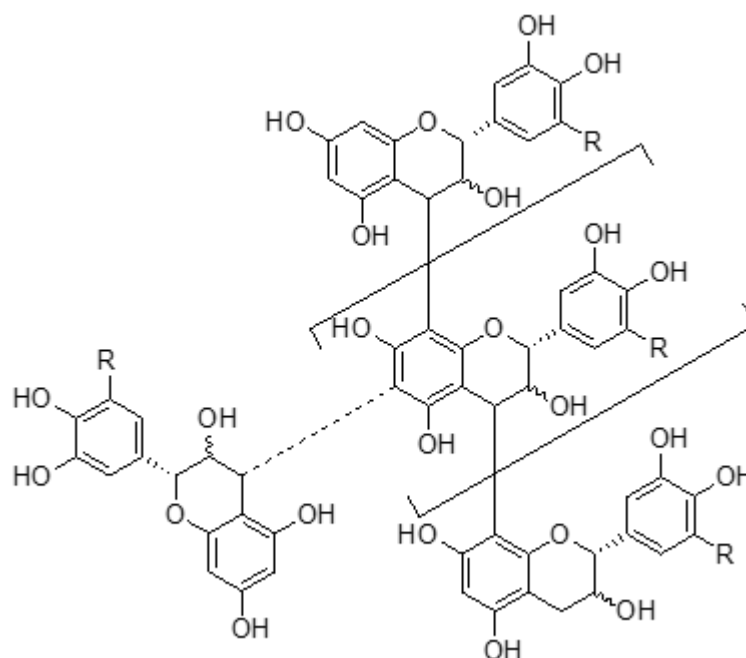


Figura 3: Estrutura química do Tanino Condensado Fonte: Oliveira *et al.*, (2011).

Uma das mais importantes propriedades químicas dessa classe de taninos é a habilidade de formar complexos com macromoléculas tais como proteína e carboidratos, sendo inclusive, o aspecto mais determinante dos efeitos nutricionais e toxicológicos em pequenos ruminantes (Otero & Hidalgo, 2004) e, por esse motivo, são capazes de exercer efeitos benéficos ou adversos, dependendo da sua concentração e natureza, espécie e estado fisiológico do animal. Estes compostos formam complexos primariamente com proteínas e, em menor extensão, com íons metálicos, polissacarídeos e aminoácidos (Makkar *et al.*, 2007).

### 2.3. Atividade biológica de taninos condensados (TC)

A variabilidade de polimerização com que os taninos condensados se apresentam, mostra que ainda não se tem elucidado por completo o seu papel e modo de ação em relação às suas atividades biológicas. Estas restrições que tornam a compreensão da

extensão dos impactos biológicos dos TC, não só em animais ruminantes que os consome, mas também para o ecossistema de modo geral (Naumann *et al.*, 2013).

A quantidade e o tipo de taninos sintetizados pelas plantas variam consideravelmente dependendo da espécie, do cultivo, do estrato e das condições ambientais. Geralmente, a concentração é maior em espécies que prosperam em solos pobres em fertilidade, tal como ocorre nas regiões tropicais e subtropicais (Otero & Hidalgo, 2004). Ressalta-se de mesmo modo, a distinção de taninos entre espécies de gênero vegetal semelhante, de forma que essa variabilidade influi na atividade biológica dos taninos (Kahiya *et al.*, 2003).

Alonso Díaz *et al.* (2010) relataram que é necessário ainda a definição de outros aspectos envolvidos para uma melhor caracterização, tais como o estrato da planta, idade e estado fisiológico. Fatores ligados ao animal (espécie, idade, condição fisiológica) também devem ser considerados para que o mesmo possa ser utilizado no controle de nematódeos.

As atividades biológicas dos taninos condensados estão relacionadas intrinsecamente com uma ou mais combinação de fatores, incluindo peso molecular, estereoquímica, hidroxilação e grupos funcionais contidos nos compostos polifenólicos (Naumann *et al.*, 2013). Além disso, eles estão relacionados com a sua capacidade para complexar com proteínas, lipídios e carboidratos, com base nos quais os tornam estruturalmente dependentes do pH do ambiente (Smith *et al.*, 2005).

Taninos condensados se apresentam nos vegetais em três frações: TC ligado a proteína (PBCT), TC ligado a fibras (FBCT) e TC extraível (ECT) (Wolfe *et al.*, 2008.), segundo metodologia de Terril *et al.* (1992). A concentração de TC em cada fração é dependente de vários fatores, incluindo os níveis de nutrientes induzidos de estresse e do

clima (Veteli *et al.*, 2007), a idade e origem anatômica do tecido da planta, e varia entre ambos, como também dentro de cada espécie de plantas. A abundância relativa destas três frações pode afetar a atividade biológica dos taninos condensados.

#### **2.4. Resistência Anti-helmíntica e controle**

A resistência aos anti-helmínticos enquadra-se como a capacidade de indivíduos de uma população em suportar concentrações de um composto químico que já tenha provado ser eficaz à maioria de uma mesma população. Vieira (2003) diz que a habilidade de resistir a futuras exposições a uma droga pode ser transmitida aos seus descendentes. No entanto, Silva (2009) comenta que após as primeiras descrições de nematódeos resistentes aos anti-helmínticos, este fenômeno deixou de ser apenas uma curiosidade em parasitologia para dar origem a um estado de crise em alguns setores da atividade pecuária.

As helmintoses, que são controladas principalmente por utilização de anti-helmínticos, se disseminaram com o desenvolvimento da resistência dos helmintos a essas drogas, que se deve a administração de manejos inadequados (Mattos *et al.*, 2004). Os primeiros relatos se referiam a resistência dos helmintos frente à aplicação dos benzimidazóis e levamisoles, e com o descobrimento em 1981, de um grupo químico de anti-helmíntico distinto, as ivermectinas, que surgiu como uma alternativa de tratamento (Gopal *et al.*, 1999), que tem sido considerada até hoje como um princípio ativo potente para o controle das parasitoses de animais domésticos. Entretanto, a resistência as ivermectinas tem sido registrada em caprinos e ovinos.

Os relatos de resistência anti-helmíntica em nematódeos de pequenos ruminantes para os três grupos de drogas mais comumente utilizados, benzimidazóis, dos

imidazotiazóis (levamisole), e das lactonas macrocíclicas (ivermectinas) têm crescido rapidamente também em diferentes regiões do mundo, incluindo América do Sul (Molento *et al.*, 2011, Torres-Acosta *et al.*, 2012), África do Sul (Van Wyk *et al.*, 1999), Austrália (Love & Coles, 2002), Nova Zelândia (McKenna, 2010) e Europa (Papadopoulos *et al.*, 2012), representando uma considerável ameaça à produção animal eficiente.

Dentre os estudos no Brasil, mais especificamente no Nordeste, que avaliaram uma ampla gama de fármacos, mostra que no Ceará, os resultados obtidos indicam a ocorrência de resistência aos anti-helmínticos oxfendazol, levamisol e ivermectina, em nematódeos que acometem ovinos e caprinos (Melo *et al.*, 2003). Na Paraíba resultados obtidos indicaram que os nematódeos gastrintestinais de caprinos da mesorregião do Sertão Paraibano não são efetivamente sensíveis à ação dos anti-helmínticos moxidectina, albendazol e ivermectina (Rodrigues, 2005), como também foi diagnosticado em Pernambuco, Bahia e Alagoas (Barreto *et al.*, 2002; Bispo *et al.*, 2002).

No Brasil, o aumento de relatos de resistência múltipla a drogas (RMD) se dá em em uma ampla distribuição, como as regiões Sul (Cezar *et al.*, 2010), Sudeste (Veríssimo *et al.*, 2010), Centro-Oeste (Sczesny-Moraes *et al.*, 2010) e Nordeste (Rodrigues, 2005), evidenciando grande parte da gravidade desse problema. Conforme verificado em testes de eficácia a campo, onde propriedades já apresentam RMD (Veríssimo *et al.*, 2010).

O controle desses nematódeos em caprinos e ovinos é realizado, através do uso de anti-helmínticos pertencentes a grupos químicos diversos, na maioria das vezes, sem considerar os fatores epidemiológicos predominantes na região, os quais interferem diretamente na população parasitária ambiental e, conseqüentemente, na infecção do rebanho (Almeida *et al.*, 2007).

Embora sejam crescentes o desenvolvimento e a adoção de programas alternativos de controle parasitário (Molento *et al.*, 2011) visando à redução da aplicação de compostos químicos, as atuais medidas de controle ainda dependem fortemente do uso de anti-helmínticos convencionais. Sabe-se que o processo de seleção de parasitos resistentes após sua exposição aos produtos químicos é recorrente, além disso, o desenvolvimento de novas drogas é lento e excessivamente oneroso (Geary, 2013).

Contudo, para um controle efetivo do parasitismo são necessários alguns meios profiláticos de manejo, como: limpeza e desinfecção das instalações, manutenção das fezes em locais distantes dos animais e, se possível, a construção de esterqueiras na propriedade, separar os animais por faixa etária, evitar superlotação das pastagens; não introduzir no rebanho animais provenientes de outras propriedades antes de serem desverminados e manter os animais isolados após a desverminação, são medidas que devem ser adotadas na propriedade como aliadas, visando obter melhores resultados quando utilizado de controle químico (Vieira, 2005).

## **2.5. Taninos condensados e atividade anti-helmíntica**

O controle dos nematódeos gastrintestinais através de desverminações é realizado na maioria das vezes sem base técnica, visando apenas atender a um programa fixo de controle, conseqüentemente, tem sido observada crescente redução na eficácia dos produtos (Molento *et al.*, 2004).

Os nematódeos gastrintestinais se apresentam como os parasitos de maior importância na pecuária, onde se destacam o *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus colubriformis*, *Strongyloides spp*, *Cooperia curticei* e *Oesophagostomum columbianum* (Amarante *et al.*, 2004).

A fitoterapia tem sido indicada como alternativa, principalmente, para reduzir os custos dos tratamentos químicos e prolongar a vida útil dos produtos anti-helmínticos disponíveis no mercado, pois diminui a pressão de seleção sobre os isolados de nematódeos (Yoshihara, 2011).

Oliveira *et al.* (2011) em seus estudos, destacam que dentre as alternativas que estão sendo pesquisadas para o controle do parasitismo gastrointestinal, o uso de plantas bioativas, ou seja, com potencial terapêutico. Dentre as hipóteses propostas para explicar a atividade anti-helmíntica dos taninos condensados, apresenta-se o seu efeito indireto destes composto ao aumentar a resposta imune de pequenos ruminantes contra parasitos.

De acordo com essa teoria, os taninos condensados protegem as proteínas da degradação ruminal, ao formarem complexos, aumentando sua disponibilidade no intestino delgado (Hoste *et al.*, 2006). Desse modo, com uma maior disponibilidade para o aporte proteico, aumenta a homeostase do hospedeiro e conseqüentemente sua imunidade contra parasitos. Assim, a melhora na utilização de nutrientes em hospedeiros que recebem taninos pode contribuir indiretamente para o aumento na resistência de animais infectados com nematódeos gastrintestinais (Waghorn & McNabb, 2003).

Cada vez mais ensaios de suplementação de pequenos ruminantes com taninos condensados, oriundos de plantas forrageiras vem sendo utilizado no controle de nematódeos gastrintestinais (Iqbal *et al.*, 2007). De modo que os taninos condensados se mostram em potencial e que podem ser utilizados no bloqueio do ciclo de nematódeos em pastagens contaminadas, no desenvolvimento larval, reinfecções e reduzindo a viabilidade dos nematódeos (Molan *et al.*, 2003).

Hoste *et al.*, (2006) enfatizaram em suas pesquisas *in vitro* a respeito da atividade anti-helmíntica dos taninos condensados que há influência dos extratos de TC nos

diferentes estágios dos nematódeos, como ovos, larvas de primeiro estágio (L1), larvas de terceiro estágio (L3) e adultos. Os efeitos registrados foram redução de eclosão, desenvolvimento, motilidade e desembainhamento larval e motilidade de adultos. Em seus estudos *in vivo* de avaliação de atividade anti-helmíntica, os TC causam reduções na carga parasitária, na liberação de ovos nas fezes e fecundidade dos parasitos.

O efeito mais comumente observado é a diminuição do número de ovos por grama de fezes (OPG), que geralmente está associada com redução da fecundidade dos nematódeos (Tabela 1).

Tabela 1 Experimentos *in vivo* e *in vitro*\* realizados com ovinos e caprinos para avaliação da atividade anti-helmíntica de plantas ricas em taninos condensados

| Família (subfamília)     | Espécie                      | Efeito   | Fonte   |
|--------------------------|------------------------------|--|---|
| Anacardiaceae            | <i>Schinopsis spp</i>        | ML*  | Athanasiadou <i>et al.</i> (2001)*                      |
|                          |                              | OPG e CP   | Athanasiadou <i>et al.</i> (2001)                       |
|                          | <i>Acacia cyanophylla</i>    | OPG e CP   | Paolini <i>et al.</i> (2003)                            |
|                          |                              | OPG  | Akkari <i>et al.</i> (2008)                             |
| Fabaceae (Mimosaceae)    | <i>Acacia mearnsii</i>       | AL*  | Minho <i>et al.</i> (2008) *                            |
|                          |                              | OPG e CP   | Minho <i>et al.</i> (2008);<br>Max <i>et al.</i> (2009) |
|                          | <i>Lysiloma latisiliquum</i> | EL   | Brunet <i>et al.</i> (2008a)                            |
|                          |                              | OPG  | Martinez – Ortíz de<br>Montellano <i>et al.</i> (2010)  |
|                          | <i>Hedysarum coronarium</i>  | OPG e CP   | Niezen <i>et al.</i> (2002)                             |
|                          |                              | EO e DVL*  | Molan <i>et al.</i> (2002) *                            |
| <i>Lespedeza cuneata</i> | OPG e CP                     | Lange <i>et al.</i> (2006);<br>Terril <i>et al.</i> (2007) |   |
|                          | EL e OPG                     | Joshi <i>et al.</i> (2011)                                 |   |
| Fabaceae (Papilionaceae) | <i>Lotus corniculatus</i>    | EO e DVL*  | Molan <i>et al.</i> (2002) *                            |
|                          |                              | CP   | Ramirez-Restrepo <i>et al.</i><br>(2005)                |
|                          |                              | OPG  | Heckendorn <i>et al.</i> (2007)                         |
|                          | <i>Onobrychis viciifolia</i> | ML*  | Molan <i>et al.</i> (2000) *                            |
| DBL*                     |                              | Barrau <i>et al.</i> (2005) *                              |   |
| OPG*                     |                              | Brunet <i>et al.</i> (2007) *;                             |   |
| OPG                      |                              | Heckendorn <i>et al.</i> (2007);                           |   |
| ML                       |                              | Rios De Álvarez <i>et al.</i> (2008)                       |   |

Efeito: Redução de OPG – Ovos por grama de fezes; AL – Alimentação larval; CP – Carga parasitária; EL – Estabelecimento larval; EO – Ecloração de ovos; DVL – Desenvolvimento larval; DBL – Desembainhamento larval; ML – Migração Larval. Fonte: Adaptado de Oliveira *et al.* (2011).



Essas consequências provavelmente estão relacionadas com o efeito dos TC em alterar a integridade do parasito reduzindo sua fecundidade ou causando sua eliminação, o que diminui a contaminação da pastagem. Experimentos *in vivo* indicaram que o consumo de plantas taniníferas também diminuiu significativamente o estabelecimento de larvas em estágio L3 (Brunet *et al.*, 2007; Joshi *et al.*, 2011). Alguns estudos *in vitro* confirmaram que extratos dessas plantas reduzem a carga larval ao afetar o desembainhamento ou a associação dessas larvas com a mucosa do trato gastrintestinal o animal (Brunet & Hoste 2006; Brunet *et al.*, 2008).

Os taninos condensados atuam na diminuição da carga larval e, conseqüentemente, reduzem a carga parasitária no ambiente. Entretanto, quando o hospedeiro já está infectado com uma carga grande de adultos, ocorre apenas alteração da função reprodutiva dos nematódeos, reduzindo, portanto, o OPG e conseqüentemente a contaminação da pastagem (Paolini *et al.*, 2003).

Resultados de Martínez-Ortíz-de-Montellano *et al.* (2010) apresentaram semelhança, em que o consumo em um curto período de plantas forrageiras com teores consideráveis de taninos, alteraram a fecundidade das fêmeas e também diminui a eliminação de ovos nas fezes. Apresentando viabilidade no que permite a menor contaminação das pastagens.

Outros experimentos realizados em ovinos e caprinos com plantas taniníferas mostram que deve conter no máximo 30 a 40g de taninos condensados por kg de matéria seca (MS) (3 a 4% de MS) na dieta ofertada aos animais para ser observada atividade antiparasitária (Hoste *et al.*, 2006), e não desencadear nenhuma reação adversa, como efeitos antinutricionais ou limitação de consumo. Pois ocorre formação do complexo tanino condensado-proteína salivar durante a mastigação que causa uma sensação de

adstringência, aumenta a salivação, diminui a palatabilidade e o consumo de alimentos (Otero & Hidalgo, 2004).

Alonso-Díaz *et al.* (2011), testaram as propriedades anti-helmínticas de extratos de taninos condensados em testes *in vitro* na inibição da migração larval (IML), e acarretou redução na taxa de migração de *H. contortus* para os extratos avaliados. No teste de desembainhamento, na dose de 75 µg/mL, com os extratos os autores chegaram a incidir a média de 97,5% de viabilidade. Mostrando que os taninos são potentes inibidores de desembainhamento do estágio larval L3 e de sua motilidade.

O conhecimento da epidemiologia dos nematódeos é primordial, já que os taninos condensados agem na descontaminação das pastagens, diminuindo a incidência de manifestações clínicas da doença e, principalmente, diminuindo a pressão de seleção sobre os isolados de nematódeos gastrintestinais. Com isso, pode-se minimizar o aparecimento do fenômeno da multirresistência às drogas anti-helmínticas e, até mesmo, prolongar a eficácia das drogas em uso na atualidade e das que serão lançadas posteriormente (Yoshihara *et al.*, 2011).

## **2.6. Caracterização das espécies botânicas estudadas com potencial taninífero**

### **2.6.1 Caracterização da *Mimosa tenuiflora* (Wild.) Poiret**

A *Mimosa tenuiflora* (Wild) Poiret. (Imagem I), pertence à família Fabaceae e subfamília Mimosoideae, planta característica da Caatinga e apresenta potencial de produção de forragem, constituindo, na maioria das vezes, a principal fonte de alimentação animal e nesta região é popularmente conhecida como jurema-preta (Caldas Pinto, 2006). É uma espécie xerófila arbórea, gênero *Mimosa*, ocorre em larga escala nos estados do Nordeste brasileiro, sob clima semiárido (Araújo *et al.*, 2010)

A subfamília Mimosoideae apresenta cerca de 82 gêneros com aproximadamente 3.271 espécies, distribuídas nas regiões tropicais, subtropicais e temperadas-quentes do globo (Schrire *et al.* 2005). As *Mimosa tenuiflora* (wild) Poiret., é uma espécie de elevado potencial madeireiro para o nordeste (Figueirôa *et al.* 2005). Esta espécie é oportunista e secundária, estabelecendo-se em áreas antropizadas, além de apresentar uma grande amplitude de tolerância aos diferentes parâmetros físico-químicos do solo (Camargo-Ricalde, 2000).

De porte arbustivo, com altura de 5 a 7 m, formando hastes de mais de 1,5 m de altura, com acúleos esparsos, eretos e bem agudos (Bezerra *et al.* 2011). Possui caule ereto ou levemente inclinado, com ramificação abundante e ramos castanho-avermelhados, esparsamente aculeados. Apresenta casca rugosa, fendida longitudinalmente e pouco fibrosa. As ramificações são dotadas de folhas compostas, bipinadas, de um a três cm de comprimento (pecíolo e raque) e com 4 a 7 pares de pinas constituídas, com 15 a 33 pares de folíolos brilhantes, que caem e se refazem continuamente, cobrindo o solo com um leve manto que logo se decompõe, formando ligeiras camadas de húmus (Oliveira *et al.*, 1999).

Suas folhas, hastes finas e frutos são consumidos pelos ruminantes, contribuindo significativamente para a dieta dos animais no pasto, e apresenta boa aceitabilidade pelos animais, seja *in natura* ou fenada, sendo facilmente encontrada na Caatinga, altamente resistente à seca e possui capacidade de rebrota durante todo o ano (Pereira Filho *et al.*, 2008). No Nordeste a jurema preta tem sido explorada também para produção de estacas e lenha por apresentar alta densidade (Araújo *et al.*, 2004), além de que, os caprinos, ovinos e bovinos têm nessa planta, um importante componente de suas dietas.

A produção de matéria seca de folhas de jurema preta em vegetação lenhosa de Caatinga rebaixada com densidade de 1008 plantas/ha, variou de 226,7 a 463,3 kg/ha segundo Pereira Filho et al. (2008). Em relação a composição química da Jurema preta Nozella (2001), encontrou os seguintes valores em g/kg de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), Fibra em detergente neutro (FDN), Fibra em detergente ácido (FDA) e Lignina digerida em ácido (LDA) respectivamente: 424,2; 159,6; 462,6; 325,1; 145,3. Enquanto Moreira *et al.* (2006), encontraram os seguintes valores para MS, PB, FDN, FDA, respectivamente: 476,8 g/kg MN; 168,8 g/kg MS; 406,4 g/kg MS; 369,2 g/kg MS.

Em identificação e análises quantitativas de substâncias antinutricionais (taninos e saponinas) na jurema preta, Paes *et al.* (2006) avaliaram o potencial taninífero da casca do caule de seis espécies florestais encontradas no Semiárido brasileiro, dentre elas a jurema preta com um percentual de 17,74% de taninos totais, sendo assim considerada um potencial como produtoras de taninos. Enquanto Souza (2015), para a mesma fração da jurema preta em coleta no estado de Alagoas, encontrou 55,0% de taninos totais.

Bezerra et al. (2011), trabalhando com jurema preta, mostraram que a espécie pode ser excelente alternativa como fonte de taninos para as indústrias da região Nordeste, diversificando a renda do trabalhador rural.

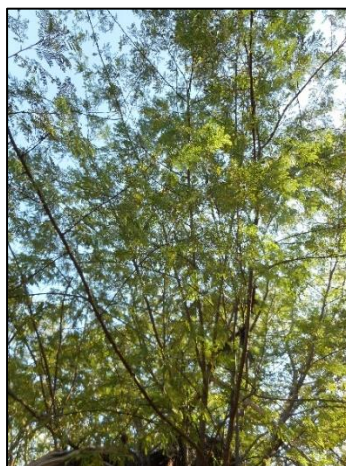


Figura I: *Mimosa tenuiflora* (Wild) Poiret. Fonte: Arquivo pessoal

### 2.6.2 Caracterização da *Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan

A *Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan (Imagem II), da família Mimosaseae (Leguminosae-Mimosoideae), popularmente conhecida por angico vermelho, distribui-se naturalmente em todos os estados do Nordeste (Santos *et al.* 2004), com exceção do estado do Ceará, podendo ser encontrada em diversos biomas, como Caatinga, florestas decíduas, Mata Atlântica, Cerrado e Pantanal Mato-Grossense. É uma espécie decídua, heliófita de crescimento rápido, xerófito, tolerando solos rasos e compactados (Maia, 2004)

O angico-vermelho (*Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan) pode atingir, quando adulto, 13 a 20 m de altura e tronco com 40-60 cm de diâmetro. Apresenta crescimento de moderado a rápido, podendo atingir, quando em ótimas condições, produtividades de até 25,55 m<sup>3</sup>/ha/ano. Suas folhas são paripinadas do tipo composta com forma lanceolada e inserção alternada, contém cerca de 25 pares de folíolo, possuindo consistência foliácea, apresenta uma glândula oval no início do pecíolo (Figueiredo *et al.*, 2013).

Nozella (2001) encontrou em suas análises químicas das folhas de Angico vermelho os seguintes valores em g/kg para MS, PB, FDN, FDA, respectivamente: 545,2; 162,0; 404,3; 295,3. Enquanto estudos de mesma vertente por Moreira *et al.* (2006), apresentaram-se os seguintes valores de MS, PB, FDN, FDA, respectivamente de: 684,1 g/kg MN; 145,8; 353,5; 281,6 g/kg MS. Quanto aos teores de taninos condensados presente na casca desta espécie se apresentaram bastante satisfatórios nos estudos de Lorenzi (2000), com (136 a 200 g/Kg MS). Enquanto Paes *et al.* (2006) encontraram uma concentração de 118,90 g/kg MS de taninos também na casca, sendo por isso, um critério que torna o angico muito utilizado em curtumes.



Figura II: *Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan. Fonte: Arquivo pessoal

### 2.6.3 Caracterização da *Poincianella pyramidalis* (Tul.)

A Árvore de *Poincianella pyramidalis* Tul, pertence à família Fabacea, conhecida popularmente como catingueira é uma espécie arbórea endêmica da vegetação Caatinga (Damasceno *et al.* 2007). Pode alcançar de 4 a 8 m, podendo chegar a 10 m e diâmetro de até 50 cm, quando em áreas com melhores fertilidades de solo. Na região Semiárida, se reduz a arbustos de menos de 2 m e poucos centímetros de diâmetro na base. Seu caule apresenta casca viva de espessura delgada, cinza-claro. Enquanto suas folhas são bipinadas e mais uma pina terminal, com 5 a 11 folíolos alternos (Sampaio *et al.*; 2005).

O uso da catingueira pelos agricultores se apresenta como uma alternativa na alimentação de pequenos ruminantes, além de também ser caracterizada pela extração da lenha para produção de carvão vegetal e para construção, principalmente de apriscos, atividade essa que contribui para redução em densidade populacional dessa espécie (Maia, 2004).

Esta espécie é considerada uma boa forrageira, quanto aos seus aspectos nutricionais. As folhas jovens são procuradas pelo gado, no entanto, estas são desprezadas

quando adultas devido ao cheiro desagradável que adquirem, fenadas perdem esse cheiro, constituindo boa forragem, principalmente durante o período seco, como ocorre com várias árvores da Caatinga, suas folhas secas caídas ao chão são muito apreciadas pelos diversos rebanhos, dentre bovinos, caprinos e ovinos. Além de ter também aplicabilidade na medicina caseira para tratar casos de descontrole intestinal e processos inflamatórios (Nascimento *et al.* 2002).

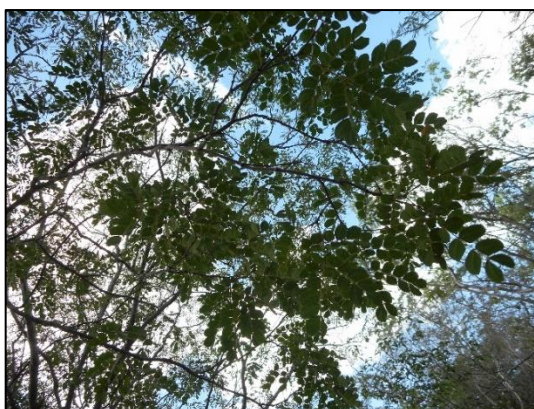


Figura III: *Poincianella pyramidalis* Tul. Fonte: Arquivo pessoal

Durante o período de estiagem, as folhas caídas da catingueira, formam juntamente com galhos, semente e detritos, a serapilheira, que participa da dieta dos animais principalmente no período de baixa precipitação pluvial. Segundo Andrade *et al.* (2010) no início da estação seca as folhas que caem das árvores tornam-se predominantes na composição de fitomassa disponível para os animais.

Quanto aos valores nutricionais da catingueira, Souza *et al.* (2013), demonstraram os seguintes valores de sua composição bromatológicas com base na matéria seca: proteína bruta (PB) 273,2; fibra em detergente neutro (FDN) 481,9 e matéria orgânica (MO) 931,6 g/kg MS. Esses valores retratam segundo os autores a catingueira como uma boa forrageira para compor a dieta de ruminantes a pasto.

Pereira & Quirino (2008) em suas pesquisas encontraram valores químico-bromatológicas diferentes, mas não menos favorável como incremento na dieta de ruminantes a pasto, com os seguintes valores: Matéria seca (MS) 540,1; Proteína bruta (PB) 115,8; e Fibra em detergente neutro (FDN) 491,0 g/kg MS, todos estes valores representados na matéria seca.

Estes diferentes valores nutricionais expressos pelos autores podem estar atrelados a diversos fatores, onde podem estar envolvidos o estágio de desenvolvimento da planta, estação do ano ou mesmo o local de coleta.



### 3. REFERÊNCIAS

AKKARI, H. et al.. Feeding *Acacia cyanophylla* Lindl. Foliage to Barbarine lambs with or without PEG: Effect on excretion of gastro-intestinal nematode eggs. **Animal Feed Science and Technology**, v.147, p.182-192. 2008

ALMEIDA, M. A. O. et al. Efeitos dos extratos aquosos de folhas de *Mentha piperita* L. e de *Chenopodium ambrosioides* L. sobre cultivos de larvas infectantes de nematódeos gastrintestinais de caprinos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 16, n. 1, p. 57-59. 2007.

ALMEIDA, W. V. F. et al. Avaliação de plantas medicinais em caprinos da região do semi-árido paraibano naturalmente infectados por nematódeos gastrintestinais **Revista Caatinga**, vol. 20, núm. 3. 2007.

ALONSO-DÍAZ, M. A. et al. Tannins in tropical tree fodders fed to small ruminants: A friendly foe?. **Small Ruminant Research**, v.89, p.164-173. 2011.

AMARANTE, A.F.T.; et al. Resistance of Santa Ines, Suffolk and Ile de France lambs to naturally acquired gastrointestinal nematode infections. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.120, p.91-106. 2004.

ANDRADE, A.P.; et al. Produção Animal no Semiárido: o desafio de disponibilizar forragem, em quantidade e com qualidade, na estação seca. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v.4, n. 4, p. 01-14, 2010.

ARAÚJO FILHO, J.A.; et al. Efeitos da manipulação da vegetação lenhosa sobre a produção e compartimentalização da fitomassa pastável de uma Caatinga sucessional. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.1, p.11-19, 2010.

ARAÚJO, L. V. C.; LEITE, J. A. N.; PAES, J. B. Estimativa da produção de biomassa de um povoamento de jurema-preta (*Mimosa tenuiflora* (willd.) poiret. com cinco anos de idade. **Biomassa & Energia**. v. 1, n. 4, p. 347-352, 2004.

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, p.205-219. 2001.

ATHANASIADOU, S. et al. Exploiting synergisms and interactions in the nutritional approaches to parasite control in sheep production systems. **Small Ruminant Research**, v.76, p.2-11. 2008.

BARRETO, M.A.; et al. Resistência anti-helmintica em rebanhos caprinos no estado da Bahia. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA (CONBRAVET), 29, 2002, Anais..., Gramado: SBMV/SOVERGS. 2002.

BEELEN, et al. Characterization of condensed tannins from native legumes of the Brazilian northeastern semi-arid. **Sci. Agric.** (Piracicaba, Braz.), v.63, n.6, p.522-528. 2006.

BEZERRA, D. A. C. et al. Abordagem Fitoquímica, Composição Bromatológica e Atividade antibacteriana de *Mimosa tenuiflora* (Wild) Poiret e *Piptadenia stipulacea* (Benth) Ducke. **Acta Scientiarum. Biological Sciences** Maringá, v. 33, n. 1, p. 99-106, 2011.

BISPO M. S., et al. Avaliação do tratamento antihelmíntico com oxfendazole e ivermectina em rebanho caprino do Instituto Xingó-município de Piranhas-Alagoas, 2002. Anais. Ri ode Janeiro: **Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária**. 2002.

BRUNET, S. et al. Effects of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) extract and monomers of condensed tannins on the association of abomasal nematode larvae with fundic explant. **International Journal for Parasitology**, v.38, p.783-790. 2008.

BRUNET, S. et al. The kinetics of exsheathment of infective nematode larvae is disturbed in the presence of a tannin-rich plant extract (sainfoin) both *in vitro* and *in vivo*. **Parasitology**, p.1-10. 2007.

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, p.7481-7487. 2006.

CALDAS PINTO M. S., BORGES CAVALCANTE M A, MEIRA DE ANDRADE M. V. Potencial forrageiro da caatinga, fenologia, métodos de avaliação da área foliar e o efeito do déficit hídrico sobre o crescimento de plantas. **Rev Eletr Vet** 7: 1-10. 2006.

CAMARGO-RICALDE, S.L. Descripción, distribución, anatomía, composición química y usos de *Mimosa tenuiflora* (Fabaceae-Mimosoideae) em México. **Revista de Biología Tropical** 48(4): 1-23. 2000.

CARVALHO, J.C.T., et al. Compostos fenólicos simples e heterosídicos. In: Farmacognosia – da planta ao medicamento. 4ªed. Porto Alegre/Florianópolis. **Editora da Universidade**, p.443-461. 2002.

CHAGAS, A. C. S. Controle de parasitas utilizando extratos vegetais. **Revista Brasileira de Parasitologia**, São Paulo, v. 13, n. 1, p. 156-160, 2004.

DAMASCENO, M. M. Composição Bromatológica de Forragem de Espécies Arbóreas da Caatinga Paraibana em Diferentes Altitudes. Dissertação de Mestrado. João Pessoa. **UFCG**, 2007.

FIGUEIREDO, F. G.; et al. Modulation of the antibiotic activity by extracts from *Amburana cearencis* A. C. Smith and *Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan. **BioMed Research International**, v.2013, p.1-5, 2013.

FIGUEIRÔA, J.M.; et al. (Eds.) Espécies da flora nordestina de importância econômica potencial. Recife, **Associação Plantas do Nordeste (APNE)**. 2005.

- FRUTOS, P. et al. Tannins and ruminant nutrition. **Spanish Journal of Agricultural Research**, v.2, n.2, p.191-202. 2004.
- 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.
- HOSTE, H. et al. The effects of tannin-rich plants on parasitic nematodes in ruminants. **Trends in Parasitology**, 22 (6): 253-261. 2006.
- IQBAL, Z. et al. Direct and indirect anthelmintic effects of condensed tannins in sheep. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 144, n. 1-2, p. 125-131. 2007.
- 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.
- KAHIYA, C.; MUKARATIRWA, S.; THAMSBORG, S.M. Effects of *Acacia nicolítica* and *Acacia karoo* diets on *Haemonchus contortus* infection in goats. **Veterinary Parasitology**, v.115, n.3, p.265-74. 2003.
- LANGHE, K.C. et al. Effect of sericea lespedeza (*Lespedeza cuneata*) fed as hay, on natural and experimental *Haemonchus contortus* infections in lambs. **Veterinary Parasitology**, v.141, p.273- 278. 2006.
- LORENZI, H. Árvores brasileiras. Nova Odessa: **Plantarum**, v.1. 352p. 2000.
- MAIA, G. N. Caatinga: árvores e arbustos e suas utilidades/ Gerda Nickel Maia. -- 1.ed. -- São Paulo : **D&Z Computação Gráfica e Editora**, 2004.
- 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**, p.1371-1391. 2007.
- MARTÍNEZ-ORTÍZ-DE-MONTELLANO, C. et al. Effect of a tropical tannin-rich plant *Lysiloma latisiliquum* on adult populations of *Haemonchus contortus* in sheep. **Veterinary Parasitology**, v.172, p.283-290. 2010.
- MATTOS, M. J. T. et al. *Haemonchus* resistente à lactona macrocíclica em caprinos naturalmente parasitados. **Ciência Rural, Santa Maria**, v.34, n.3, p.879-883, mai-jun, ISSN 0103-8478. 2004.
- MAX, R.A. et al. The effect of wattle tannin drenches on gastrointestinal nematodes of tropical sheep and goats during experimental and natural infections. **Journal of Agricultural Science**, v.147, p.211-218. 2009.
- MIN, B. R.; HART, S. P. Tannin for suppression of internal parasites. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 81, n. 14, E.102-E.109. 2003.

MIN, B.R.; BARRY, T.N.; ATTWOOD, G.T.; MCNABB, W.C. The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate forages: a review. **Animal Feed Science and Technology**. v.106, p.3-19. 2003.

MINHO, A. P. et al. In vitro effect of condensed tannin extract from acacia (*Acacia mearnsii*) on gastrointestinal nematodes of sheep. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, supl. 1, p.144-148. 2008.

MOLAN, A. L.; et al. Effect of flavan-3-ols on in vitro egg hatching, larval development and viability of infective larvae of *Trichostrongylus colubriformis*. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 33, n. 14, p. 1691-1698. 2002.

MOLENTO, M. B.; TASCAR, C. et al., Método famacha como parâmetro clínico individual de infecção por *Haemonchus contortus* em pequenos ruminantes. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, p. 1139-1145. 2004.

MOREIRA, J. N.; ANDRADE LIRA, M. de; SANTOS, M. V. F. dos; et al. Caracterização da vegetação de caatinga e da dieta de novilhos no Sertão de Pernambuco. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.11, p.1643-1651, 2006.

NASCIMENTO, H. T. S. NASCIMENTO. M. S. C. B. RIBEIRO, V. Q. Catingueira - Forrageira Nativa para Fenação. (Circular técnica, MAPA), 2002.

NAUMANN et al. Condensed Tannins In The Ruminant Environment: A Perspective On Biological Activity - **Journal of Agricultural Sciences** Vol. 1(1), pp. 8-20. 2013.

NAUMANN H. D, HAGERMAN A.E, LAMBERT BD, MUIR J.P, TEDESCHI L.O. Does total condensed tannin concentration predict protein precipitability by warm season perennial legumes? **Annual Meeting of the Southern Branch of the American Society of Agronomy**, Orlando, FL. 2013.

NIEZEN, J.H. et al. The effect of feeding sulla (*Hedysarum coronarium*) or lucerne (*Medicago sativa*) on lamb parasite burdens and development of immunity to gastrointestinal nematodes. **Veterinary Parasitology**, v.105, p.229-245. 2002.

NOZELLA, E. F. Determinação de taninos em plantas com potencial forrageiro para ruminantes. 58f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - **Centro de Energia Nuclear na Agricultura**/ Universidade de São Paulo, Piracicaba. 2001.

OLIVEIRA, L. M. B. et al. Plantas taniníferas e o controle de nematódeos gastrintestinais de pequenos ruminantes. **Ciência Rural**, v.41, n.11, nov. 2011.

OLIVEIRA, M.R.; RODRIGUES, J.M.E.; CHIAVONE-FILHO, O. et al. Estudo das condições de cultivo da algaroba e jurema preta e determinação do poder calorífico. **Revista de Ciência e Tecnologia**, v.14, p.93-104 1999.

OLIVEIRA, S. G. BERCHIELLI, T.T. Potentiality of tannins used in forages conservation and ruminant nutrition - a review. **Archives of Veterinary Science** v.12, n.1, p. 1-9. 2006.

OTERO, M.J.; HIDALGO, L.G. Taninos condensados en espécies forrajeras de clima templado: efectos sobre productividad de rumiantes afectados por parasitosis gastrointestinales. **Livestock Research for Rural Development**, v.16, n.2, p.1-9. 2004.

PAES, J. B.; DINIZ, C. E. F.; MARINHO, I. V.; LIMA, C. R. Avaliação do potencial tanífero de seis espécies florestais de ocorrência no semi-árido brasileiro. **Cerne**. v. 12, n. 3, p. 232- 238, 2006.

PAOLINI, V. et al. Effects of condensed tannins on established populations and on incoming larvae of *Trichostrongylus colubriformis* and *Teladorsagia circumcincta* in goats. **Veterinary Research**, v.34, p.331-339. 2003.

PEREIRA FILHO, J. M.; VIEIRA, E. L.; KAMALAK, A.; SILVA, A. M. A.; et al. Correlação entre o teor de tanino e a degradabilidade ruminal da matéria seca e proteína bruta do feno de jurema-preta (*Mimosa tenuiflora* (Wild) Poiret) tratada com hidróxido de sódio. **Livestock Research for Rural Development**. v.17, art.91., 2008.

PEREIRA, F. R. L & QUIRINO, Z. G. M. Fenologia e biologia Floral de neoglaziovia variagata (bromeliácea) na caatinga paraibana. **Rodriguésia**, v. 59, n.4, p. 835-844, 2008.

PERES, L. E. P. Metabolismo Secundário. Piracicaba – São Paulo: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. **ESALQ/Universidade de São Paulo**, p. 1-10. 2004.

RAMÍREZ-RESTREPO, C.A. et al. Use of *Lotus corniculatus* containing condensed tannins to increase summer lamb growth under commercial dryland farming conditions with minimal anthelmintic drench input. **Animal Feed Science and Technology**, v.122, p.197-217. 2005.

RÍOS-DE ÁLVAREZ, L. et al. The effect of dietary sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) on local cellular responses to *Trichostrongylus colubriformis* in sheep. **Parasitology**, v.135, p.1117-1124. 2008.

SAMPAIO, E. V. S. B., et al. Espécies da flora nordestina de importância econômica potencial. eds. Recife: **Associação Plantas do Nordeste**, p. 331, 2005.

SANTOS, F.A.R. et al. Apícolas. In: SAMPAIO, E.V.S.B. et al. Espécies da flora nordestina de importância econômica potencial. Recife: Associação Plantas do Nordeste, p. 17. 2004.

SCHRIRE, B.D.; LEWIS, G.P. & LAVIN, M. Biogeography of the Leguminosae. Pp. 21-54. In: Lewis, G.P.; Schrire, B.; Mackinder, B. & Lock, M. (Eds.). **Legumes of the World**. Kew, Royal Botanic Gardens. 2005.

SILVA, C. F. Avaliação da Eficácia de *Typha Domingensis* Pers (Taboa) e *Operculina Hamiltonii* (G. Don) D.F. Austin & Staples) (Batata de Purga), in natura, sobre Infecções Helmínticas Gastrointestinais em Caprinos Naturalmente Infectados, em Clima Semi-Árido / Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) – Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande. 2009.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G. Farmacognosia: Da planta ao medicamento. 6. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Universidade/ Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 1102 p. 2010.

SINGH, B. et al. Potential therapeutic applications of some antinutritional plant secondary metabolites. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, p.5579-5597. 2003.

SMITH, A.H. ZOETENDAL, E. MACKIE, R. I. Bacterial mechanisms to overcome inhibitory effects of dietary tannins. **Microbial Ecol.** 50: 197–205. 2005.

SOUZA, L. V. S.; et al. Qualidade nutricional de plantas forrageiras de ocorrência natural na Caatinga. **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA**, Centro científico conhecer – Goiânia, v. 9, n. 16, p. 179. 2013.

TERRIL, T.H. et al. Effect of pelleting on efficacy of sericea lespedeza hay as natural dewormer in goats. **Veterinary Parasitology**, v.146, p.117-122. 2007.

THARAYIL, N. et al. Changes in the structural composition and reactivity of *Acer rubrum* leaf litter tannins exposed to warming and altered precipitation: climatic stress-induced tannins are more reactive. **New Phytologist** 1: 132–145. 2011.

VETELI, T. O. et al. Do elevated temperature and CO<sub>2</sub> generally have counteracting effects on phenolic phytochemistry of boreal trees? **J. Chem Ecol.** 33: 287–296. 2007.

VIEIRA, L. S.; et al. Evaluation of anthelmintic efficacy of plants available in Ceará, North - East Brazil, for the control of goat gastrointestinal nematodes. **Revue Medicine Veterinaire, Toulouse**, v. 150, n. 5, p. 447-452. 1999.

WAGHORN, G.C.; MCNABB, W.C. Consequences of plant phenolic compounds for productivity and health of ruminants. **Proceedings of the Nutrition Society**, v.62, p.383-392. 2003.

WAKSMUNDZKA-HAJNOS, M.; SHERMA, J.; KOWALSKA, T. Thin layer chromatography in phitochemistry. **Chromatographic Science Series**. v. 99. 2008.

WOLFE, R. M. TERRILL, T. H. MUIR, J. P. Drying method and origin of standard affect condensed tannin (CT) concentrations in perennial herbaceous legumes using simplified butanol-HCl CT analysis. **J. Sci. Food Agric** 88: 1060–1067. 2008.

YOSHIHARA, E. Uso de fontes de taninos condensados no controle de nematódeos gastrintestinais de ovinos - **Pesquisa & Tecnologia** (APTA Regional) ISSN 2316-5146, vol. 8, n. 2, Jul-Dez. 2011.

## OBJETIVOS

### Objetivos gerais

Caracterizar químico-bromatologicamente e quantificar as frações de taninos condensados das cascas e das folhas com hastes de Jurema preta (*Mimosa tenuiflora* (Willd) Poiret), Angico vermelho (*Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan) e Catingueira (*Poincianella pyramidalis* (Tul.)). Além de avaliar o potencial anti-helmíntico do extrato purificado de tanino condensado de folhas com hastes da Jurema preta (*Mimosa tenuiflora* (Willd) Poiret) sobre nematódeos gastrintestinais infectantes de caprinos *in vitro*.

### Objetivos específicos

- Determinar a composição químico-bromatológica da casca e folhas com hastes das espécies jurema preta (*Mimosa tenuiflora* (Willd) Poiret), angico vermelho (*Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan) e catingueira (*Poincianella pyramidalis* (Tul.));
- Quantificar e caracterizar as frações de taninos condensados da casca e folhas com hastes das espécies jurema preta (*Mimosa tenuiflora* (Willd) Poiret), angico vermelho (*Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan) e da catingueira (*Poincianella pyramidalis* (Tul.)) através da metodologia do HCl-Butanol e Fenóis Precipitáveis por Proteína (PPP);
- Avaliar o potencial anti-helmíntico do extrato purificado de tanino condensado da jurema preta (*Mimosa tenuiflora* (Willd) Poiret) em ensaios de inibição de desenvolvimento larval *in vitro* de nematódeos gastrintestinais em caprinos.

## CAPITULO I

### **QUANTIFICAÇÃO TANINÍFERA DE FABACEAS NATIVAS DA CAATINGA** *Mimosa tenuiflora* (Wild) Poiret., *Anadenanthera macrocarpa* (Benth) Brenan. E *Poincianella pyramidalis* (Tul.)

**Seguindo normas da Revista Caatinga**



**QUANTIFICAÇÃO TANINÍFERA DE FABACEAS NATIVAS DA CAATINGA**  
*Mimosa tenuiflora* (Wild) Poiret., *Anadenanthera macrocarpa* (Benth) Brenan. E  
*Poincianella pyramidalis* (Tul.)

**Resumo** - Os taninos se apresentam como compostos fenólicos de interesse em vários âmbitos industriais, desde o farmacológico até o nutricional. A caracterização química e quantitativa desses compostos, possibilita um melhor entendimento e direcionamento em sua utilização. Objetivou-se com o estudo caracterizar químico-bromatologicamente as folhas com hastes e cascas de três fabaceas nativas e avaliar através da metodologia do HCl-butanol, quantitativamente sua concentração e o seu potencial de complexação com as diferentes frações do vegetal. As análises químico-bromatológicas realizadas foram: matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), extrato etéreo (EE) e de nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN) e nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA). Os dados químico-bromatológicos e frações de taninos condensados foram analisados através de estatística descritiva. Foram obtidos valores de MS, PB, FDN e FDA para as folhas com hastes de *Mimosa tenuiflora* (Wild) Poiret., *Anadenanthera macrocarpa* (Benth) Brenan. e *Poincianella pyramidalis* (Tul.) respectivamente: 425,6; 563,8; 553,4 g/kg MN, 201,1; 178,8; 171,5 g/kg MS, 271,2; 296,9; 292,2 g/kg MS, 153,3; 192,4; 192,9 g/kg MS. E para as cascas foram obtidos os valores de MS, PB, FDN e FDA respectivamente: 767,7; 714,2; 705,6 g/kg MN, 110,6; 68,5; 68,5 g/kg MS, 545,3; 444,7; 588,4 g/kg MS, 472,6; 391,8; 389,0 g/kg MS. Enquanto para taninos condensados totais através das metodologias do HCl-Butanol obteve-se, respectivamente: 49,9; 55,8; 97,5 g/kg MS para folhas com hastes e 373,3; 125,7; 134,2 g/kg MS para cascas. A *Mimosa tenuiflora* (Wild) Poiret. foi a espécie que apresentou maiores teores de taninos condensados totais.

**Palavras-chave:** angico vermelho, bioatividade, catingueira, jurema preta, Semiárido

**QUANTIFICATION TANINÍFERA FABACEAS NATIVE OF CAATINGA**  
***Mimosa tenuiflora* (Wild) Poiret., *Anadenanthera macrocarpa* (Benth) Brenan. And**  
***Poincianella pyramidalis* (Tul.)**

**Abstract** - As secondary metabolites, tannins present as phenolics of interest in various fields, from the pharmacological, nutritional up at industrial level. The chemical and quantitative characterization of these compounds, allows a better understanding and guidance on their use. The objective of the study developed characterize chemical-bromatological leaves with stems and three native fabaceas shells and evaluate by HCl-butanol methodology quantitatively their concentration and their potential for complexation with the different fractions of the plant. The chemical and chemical analyzes were carried out: dry matter (DM), mineral matter (MM), crude protein (CP), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF) and ether extract (EE). The chemical-composition data and fractions of condensed tannins were analyzed using descriptive statistics. Were obtained values of DM, CP, NDF and ADF for the leaves with stems of *Mimosa tenuiflora* (Wild) Poiret., *Anadenanthera macrocarpa* (Benth) Brenan. and *Poincianella pyramidalis* (Tul.) respectively: 425.6; 563.8; 553.4 g/kg MN, 201.1; 178.8; 171.5 g/kg DM, 271.2; 296.9; 292.2 g/kg DM, 153.3; 192.4; 192.9 g/kg DM. And the shells were obtained values of DM, CP, NDF and ADF respectively: 767.7; 714.2; 705.6 g/kg MN, 110.6; 68.5; 68.5 g/kg DM, 545.3; 444.7; 588.4 g/kg DM, 472.6; 391.8; 389.0 g/kg DM. As for total condensed tannins through-Butanol HCl methodologies were obtained, respectively: 49.9; 55.8; 97.5 g/kg DM for leaves with stems and 373.3; 125.7; 134.2 g/kg DM for shells. *Mimosa tenuiflora* (Wild) Poiret. It was the species that showed higher total condensed tannins content.

**Keywords:** angico vermelho, bioactivity, catingueira, jurema preta, semiárid.

## INTRODUÇÃO

A caatinga apresenta uma grande diversidade em suas espécies vegetais. A variação temporal e espacial das chuvas nessa região Semiárida, promoveu no decorrer do tempo, o desenvolvimento de mecanismos adaptativos por parte das plantas que permitem sua persistência. A busca pelo entendimento desse dinamismo apresentado por estas plantas e sua interação com o meio, além do interesse na diversidade molecular desses vegetais, tem estimulado a busca pelo conhecimento mais aprofundado do seu metabolismo, o qual é responsável pela síntese de grande parte dos compostos com potencial atividade biológica.

É sabido que a produção destes compostos está ligada principalmente a fatores de interação da planta com o meio ambiente. Devido às influências destes fatores sobre a quantidade e a composição dos taninos condensados, os dados ainda são escassos e controversos, além da dificuldade de padronização das metodologias de análise.

Estes compostos que são de interesse para os estudos atuais, são existentes na natureza em diversos graus de polimerização e hidroxilação, o que determina, conseqüentemente, a bioatividade e impacto desses compostos na sua ampla utilização (Naumann *et al.*, 2013). As espécies leguminosas presentes na Caatinga apresentam características químico-bromatológicas que podem ter influência na produção animal, bem como servir de matéria prima para vários seguimentos industriais como exemplo a indústria de alimentos.

Dados sobre a composição química de leguminosas nativas da caatinga geralmente apontam para a qualidade dessas espécies na alimentação animal, principalmente pelos altos teores de proteína bruta. Contudo, a avaliação da disponibilidade dos nutrientes é importante, tendo em vista que grande parte se encontra complexado com fibra e compostos secundários tais como lignina e taninos condensados e a forma pela qual este componente da dieta pode ser disponibilizado ao animal, principalmente quando complexado com taninos condensados.

Porém, estas características de complexação com taninos condensados são exibidas através de uma dose-resposta que varia entre as diferentes espécies de planta, dada às características estruturais peculiares dos taninos condensados e não somente pelo teor desses compostos na planta (Naumann *et al.*, 2014).

Objetivou-se com a realização deste estudo, avaliar a composição químico-bromatológica de três espécies de fabáceas nativas da caatinga *Mimosa tenuiflora* (Wild) Poiret., *Anadenanthera macrocarpa* (Benth) Brenan. e *Poincianella pyramidalis* (Tul.) e quantificar suas concentrações de taninos condensados através da metodologia do HCL-Butanol, e que estes possibilitem um melhor conhecimento da diversidade biológica da região e aproveitamento sustentável dessas espécies nas mais diversas áreas.

## MATERIAL E MÉTODOS

### 1. Local de coleta

Foi realizada em Sertânia, município do estado de Pernambuco em março de 2015, no Centro de Treinamento e Profissionalização em Caprino Ovinocultura pertencente ao Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA) em área de Caatinga preservada, na microrregião do Sertão do Moxotó a 600 m acima do nível do mar. Suas coordenadas geográficas são: latitude 08°04'25" sul e longitude 37°15'52" oeste.

A região apresenta ecossistema caatinga, caracterizada como Caatinga de Cipó (Chagas *et al.*, 2011), sendo que o clima local, segundo a classificação de Köppen, semiárido quente do tipo BSh, com duas estações distintas (chuvosa e seca), apresentando temperatura média para o período de avaliação de 25,1°C.

### 2. Coleta do material vegetal

Na área de coleta foram escolhidas aleatoriamente cinco plantas de cada espécie: Jurema preta (*Mimosa tenuiflora* (Willd) Poiret), Angico vermelho (*Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan) e Catingueira (*Poincianella pyramidalis* Tul.), sendo coletada de cada uma delas, amostras de folhas com hastes e amostras de casca.

Para a padronização das plantas escolhidas, adotou-se que as coletas deveriam ser feitas nas plantas que estivessem com a presença de folhas totalmente expandidas, ou seja, a presença de folhas com os folíolos separados e completamente abertos, sem a presença de folhas senescentes.

A coleta de folhas com hastes (até cinco mm de espessura) foi feita de maneira intercalada ao redor do perímetro da planta. Para a coleta das amostras de cascas, foram retiradas as porções externas do caule, de modo a não atingir o câmbio vascular, retirando-se fragmentos com o auxílio de uma espátula de aço, também de maneira intercalada ao redor do perímetro da planta.

Ao final, as amostras foram identificadas individualmente, acondicionadas em sacos de papel devidamente fechados, armazenados e transportados em caixas isotérmicas contendo gelo, buscando a estabilização das reações de ligação entre os taninos condensados e as proteínas e fibras das cascas e folhas com hastes.

### 3. *Processamento e armazenamento do material vegetal*

As amostras foram transportadas ao Laboratório de Nutrição Animal (LANA) da Universidade Federal Rural de Pernambuco - Unidade Acadêmica de Garanhuns – UFRPE/UAG, onde as cascas e folhas com hastes foram secas à temperatura de 40°C, em estufa com circulação forçada de ar por 72h.

Em seguida, as amostras foram moídas em moinho tipo Willye® a granulometria de até 1 mm para a realização das análises químico-bromatológicas e de extração dos taninos condensados. O material moído foi armazenado em frascos plásticos hermeticamente fechados, devidamente identificados e conservados em freezer.

### 4. *Análises químico-bromatológicas*

Realizou-se as análises laboratoriais para todas as amostras vegetais coletadas. Os teores de matéria seca (MS) foram obtidos a partir da secagem da amostra em estufa de esterilização a 105°C por 24 horas (AOAC, 1995/ 930.15); o nitrogênio total (NT) foi determinado através do método de Kjeldahl (AOAC, 1995/ 954.01), onde o teor de proteína bruta (PB) foi calculado multiplicando-se o valor de NT por 6,25. Os teores de matéria mineral (MM) foram obtidos após a queima das amostras a 600°C por quatro horas (AOAC, 1990/ 942.05); e Extrato Étéreo (EE) (AOAC, 920.39).

Os teores de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) foram determinados a partir da metodologia proposta por Goering & Van Soest (1970). Para a análise de nitrogênio insolúvel em detergente neutro (NIDN) e nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA), utilizou-se a metodologia de Licitra *et al.* (1996). As quantificações de carboidratos totais (CHT) e carboidratos não fibrosos (CNF) foram descritas a partir das equações  $CHT = 100 - (PB+EE+MM)$  e  $CNF = 100 - (PB+FDN+MM+EE)$ , por Sniffen *et al.*; (1992)

### 5. *Taninos condensados*

Para quantificação de taninos condensados (TC) (proantocianidina), das três espécies vegetais foram utilizados o método do butanol-HCl, descrito por Terrill *et al.*, (1992). As curvas padrão das espécies estudadas foram comparadas com a curva de calibração obtida com o extrato da própria planta. Os teores de todas as frações de taninos

condensados foram estimados através das equações obtidas pelas curvas de regressão para as metodologias utilizadas.

A fração de TC solúvel (ECT) foi extraída a partir de 250 mg de amostra de planta com 10 mL de uma solução aquosa de acetona 70%, seguido de lavagem em 10 ml de éter etílico. A proteína ligada ao tanino condensado (PBCT) foi extraído a partir do resíduo ECT com 10 mL de brometo de dodecil de sódio (SDS) / sulfato-mercaptoetanol. A fração de fibra ligada a TC (FBCT) foi determinada usando o resíduo remanescente da ECT e PBCT (WOLFE *et al.*, 2008).

As concentrações de taninos condensados em cada fração foi determinada com base na absorbância a 550 nm em espectrofotômetro mono feixe - BIOSPECTRO SP-22, seguindo da reação com butanol-HCl, usando extratos de TC purificados em Sephadex LH-20 (Sigma®) e liofilizada para recuperar TC purificado.

#### **6. *Análise estatística***

Os dados da composição químico-bromatológica, e frações de taninos condensados foram analisados através de estatística descritiva.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teor de matéria seca (MS) constituiu  $400,4 \pm 4,4$  g/kg para as folhas com hastes de jurema preta. Valores próximos aos encontrados por Nozella (2001) 424,2 g/kg e Moreira *et al.* (2006) com 476,8 g/kg, para a mesma espécie. Caracterizando a jurema preta como uma leguminosa passível de fenação, a qual proporcionaria bom rendimento nessas características. Tais valores podem se apresentar relativamente heterogêneos devido a diversidade dos locais de coleta e as condições ambientais do momento. Enquanto que para as cascas desta espécie os valores se mantiveram em torno de  $738,4 \pm 6,4$  g/kg MN (Tabela 2).

Os valores para matéria seca (MS) identificados para as folhas com hastes do angico vermelho se enquadraram em  $536,2 \pm 5,4$  g/kg de MN, semelhantes a literatura com 545,2 g/kg para mesmo estrato e espécie vegetal (NOZELLA, 2001) e aos  $561,7 \pm 16,8$  g/kg MN encontrado por Souza (2015) e para a casca os valores se mantiveram em torno de  $695,3 \pm 8,6$  g/kg MN, semelhante ao encontrado também por Souza (2015), com  $690,5 \pm 29,0$  g/kg MN em plantas coletas no estado de Alagoas.

Já para os teores de MS encontrado para a catingueira, temos:  $524,1 \pm 6,4$  g/kg de MN para o estrato de folhas com haste, valor próximo ao encontrado por Pereira *et al.* (2008) com 540,1 g/kg MS para a mesma espécie e inferior ao apresentado por Moreira *et al.*; (2006) com 648,1 g/kg. Enquanto no estrato casca, foram encontrados  $670,7 \pm 16,4$  g/kg de MN. A catingueira tem contribuído muito na alimentação animal em áreas de caatinga não somente devido ao seu valor nutricional, mas também devido a sua dinâmica vegetativa que favorece o aporte de massa forrageira.

Destacando a jurema preta *Mimosa tenuiflora* (Wild) Poiret. a espécie de leguminosa que apresenta maior teor de matéria seca (MS) tanto para o estrato vegetal folhas com haste, quanto para casca, dentre as espécies estudadas. Enquanto que os valores encontrados de proteína bruta (PB) no estrato folhas com haste para a jurema preta, angico vermelho e catingueira foram de 201,1; 178,8; 171,5 g/kg MS, respectivamente. Concentrações essas, relativamente elevadas quando se trata de um dos principais nutrientes vinculados a nutrição animal, de modo que nos infere a importância destas arbóreas nativas como uma alternativa favorável a oferta animal, no entanto,



infelizmente nem toda essa fração se apresenta disponível ao metabolismo animal, devido parte desta se apresentar complexada a fibra, como expresso nos dados obtidos, depreciando esta característica. De modo geral, estes valores se enquadram mais altos em relação as cascas.

As quantificações dos carboidratos totais (CHT) obtidas nas folhas com hastes de jurema preta, angico vermelho e catingueira, foram 59,55%; 64,14% e 65,38% respectivamente. Enquanto para os carboidratos não fibrosos (CNF) apresentou-se de 32,94%; 38,36%; 36,16% respectivamente para as espécies. Justificando que leguminosas são administradas em dietas animais como fonte proteica e não energética, partindo também da premissa da classificação de alimentos.

A relação entre fibra em detergente neutro (FDN) e proteína bruta (PB), credencia afirmar que a inclusão de leguminosas como parte de uma dieta para ruminantes, agrega melhor digestibilidade, conseqüentemente aumenta o consumo de MS, o que é facilmente detectado com o maior consumo pelos animais.

Os teores de FDA para o estrato de folhas com hastes para as três espécies de leguminosas, se apresentam próximos aos de FDN, característica essa que não é interessante diante da indicação da relação de conteúdo celular e acréscimo nos teores de fibra, proporcionando uma depreciação no valor nutritivo da planta, diante de que as frações solúveis são inversamente proporcionais as frações fibrosas quando se encontra leguminosas em estágio fenológico estabelecido.

Os altos teores de proteína PB encontrados, apesar de considerados como um fator potencial de qualidade para as leguminosas, apresentou uma parte significativa ligada à FDA e FDN e, por consequência, em casos de fornecimento a animais como fonte proteica, proporcionaria grande parte indisponível para estes. Em especial, para a jurema preta e angico vermelho. De fato, podendo ser expressados de modo mais conclusivo pelos valores de proteína insolúvel na fibra em detergente neutro (PIDN) e ácido (PIDA) encontrados, os quais são explicados pelas altas concentrações de taninos condensados. De modo que, quanto maior for os teores destes compostos na planta, maior será a concentração de proteína insolúvel associada à parede celular (LICITRA *et al.*, 1996).

Tabela 2. Composição químico-bromatológica em g/kg das espécies estudadas com seus respectivos estratos

| Estrato                | MS <sup>1</sup> | MO <sup>2</sup> | MM <sup>2</sup> | PB <sup>2</sup> | FDN <sup>2</sup> | FDA <sup>2</sup> | EE <sup>2</sup> | PIDN <sup>3</sup> | PIDA <sup>3</sup> |
|------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|-----------------|-------------------|-------------------|
| <b>Jurema Preta</b>    |                 |                 |                 |                 |                  |                  |                 |                   |                   |
| Folhas com Haste       | 400,4 ± 4,4     | 920,5 ± 3,7     | 79,3 ± 3,7      | 201,1 ± 7,0     | 271,2 ± 5,1      | 153,3 ± 2,6      | 118,9 ± 6,7     | 100 ± 2,6         | 38,1 ± 9,7        |
| Casca                  | 738,4 ± 6,4     | 949,1 ± 2,9     | 50,9 ± 2,9      | 110,6 ± 4,3     | 545,3 ± 22,2     | 472,6 ± 20,4     | 8,80 ± 3,7      | 80,9 ± 4,4        | 59,0 ± 9,2        |
| <b>Angico Vermelho</b> |                 |                 |                 |                 |                  |                  |                 |                   |                   |
| Folha com Hastes       | 536,2 ± 5,4     | 920,2 ± 5,5     | 79,8 ± 5,5      | 178,8 ± 6,4     | 296,9 ± 52,5     | 192,4 ± 12,7     | 100,0 ± 27,3    | 119,6 ± 3,1       | 40,4 ± 9,0        |
| Casca                  | 695,3 ± 8,6     | 916,8 ± 3,2     | 83,2 ± 3,2      | 68,5 ± 9,9      | 444,7 ± 110,5    | 391,8 ± 19,6     | 27,7 ± 3,3      | 79,9 ± 7,0        | 64,7 ± 6,39       |
| <b>Catingueira</b>     |                 |                 |                 |                 |                  |                  |                 |                   |                   |
| Folha com Hastes       | 524,1 ± 6,4     | 889,7 ± 25,4    | 110,3 ± 25,4    | 171,5 ± 7,7     | 292,2 ± 21,5     | 192,9 ± 11,3     | 64,4 ± 10,8     | 92,2 ± 1,4        | 27,3 ± 13,3       |
| Casca                  | 670,7 ± 16,4    | 864,0 ± 14,0    | 136,0 ± 14,0    | 68,5 ± 9,9      | 588,4 ± 38,4     | 389,0 ± 18,8     | 19,1 ± 5,2      | 79,1 ± 4,7        | 48,9 ± 6,3        |

MS=Matéria Seca; MO=Matéria Orgânica; MM= Matéria Mineral; PB=Proteína Bruta; FDN=Fibra em Detergente Neutro; FDA=Fibra em Detergente Ácido; EE=Extrato Etéreo; PIDN=Proteína Insolúvel em Detergente Neutro; PIDA=Proteína Insolúvel em Detergente Ácido.

<sup>1</sup>g/kg de matéria natural;

<sup>2</sup>g/kg de matéria seca;

<sup>3</sup>g/kg de proteína bruta.

## Taninos condensados

A quantificação dos teores de taninos condensados de cada espécie estudada seguiu a metodologia do HCL-Butanol, acompanhada de padronização do seu próprio extrato purificado. Torna-se importante o uso destas curvas de calibração específicas para cada amostra das espécies em estudo, pois nos possibilita uma maior especificidade dos tipos de taninos condensados presentes em cada uma delas. Além de que, estes métodos apresentam maior sensibilidade quando se deseja obter as quantificações de taninos condensados complexados com as frações diferentes da planta.

A curva de ECT representa a fração quantitativa de taninos condensados livre na planta, ou seja, a fração mais solúvel deste composto. No entanto, podem ter grande influência em suas concentrações diante das condições de armazenamento e processamento do material vegetal após a coleta. Contudo, os destaques para estas curvas foi o estrato casca, seguido das folhas com haste de jurema preta, logo depois a fração casca do angico vermelho.

Diante dos valores lidos têm-se as absorvâncias para o extrato de folhas com haste e de casca das espécies *Mimosa tenuiflora* (Wild) Poir. (Jurema preta), *Anadenanthera macrocarpa* (Benth) Brenan. (Angico vermelho) e *Poincianella pyramidalis* (Tul.) (Catingueira), obtidos pelo método do HCL-Butanol e leitura espectrofotométrica em absorvância de 550 nanômetros (nm). Deve ser considerado que a concentração total de taninos condensados é dada pela soma das frações de taninos solúveis e os ligados as frações de proteína e a fibra. Todas sempre obtidas a partir das curvas de calibração padrão realizadas com extratos da própria espécie, obtendo-se as concentrações aproximadas de taninos condensados e realizando-se as conversões para as concentrações totais. Valores totais podem ser observados na (Tabela 3).

Tabela 3. Teores de taninos condensados totais em g/kg MS obtidos segundo a metodologia do HCl-Butanol

| <b>Amostra</b>  | <b>Estrato</b>   | <b>Total</b> |
|-----------------|------------------|--------------|
| Jurema preta    | Folhas com Haste | 117,1 ± 9,5  |
|                 | Casca            | 373,3 ± 22,6 |
| Angico Vermelho | Folhas com Haste | 55,8 ± 5,2   |
|                 | Casca            | 125,7 ± 13,4 |
| Catingueira     | Folhas com Haste | 97,5 ± 15,9  |
|                 | Casca            | 134,2 ± 43,4 |

Diante destes dados pode-se observar que os maiores níveis de taninos condensados totais dentre as três espécies estudadas foram encontrados na jurema preta, tanto no estrato folhas com hastes, quanto casca. Concordando com o proposto por Beleen *et al;* (2006) trabalhando com análises de leguminosas taniníferas nativas, no qual a jurema preta, dentre as espécies nativas avaliadas, foi a que se destacou com níveis de 309,8 g/kg MS de taninos condensados. Tornando-se notório o potencial taninífero da espécie. Enquanto a catingueira *Poincianella pyramidalis* (Tul.) obteve boas concentrações de taninos totais dentre as espécies estudadas, no entanto para o estrato casca com 134,2 g/kg, foi inferior a literatura com 247,2 g/kg de taninos totais, para a mesma espécie (MONTEIRO, *et al;* 2005).

Destaca-se que foram nas cascas das três espécies leguminosas estudadas que se concentraram os maiores teores de taninos condensados totais em relação às folhas com hastes. Fator importante, pois justamente no estrato casca é que apresentou notoriamente maior rendimento do extrato purificado de taninos condensados, sendo uma alternativa mais eficaz de exploração para o setor industrial.

No que concerne a quantificação de taninos condensados em relação às frações a qual se apresentam no vegetal (Tabela 4), ressalta-se que dentre as espécies avaliadas, a fração de tanino condensado solúvel (ECT) foi maior para as cascas da Jurema preta e catingueira com 121,3 ± 13,1 e 115,1 ± 43,0 g/kg/MS, respectivamente. E entre os estratos avaliados, as cascas tiveram maior destaque, apresentando os valores mais elevados para esta fração independente da espécie.

A metodologia do HCL-Butanol está cada vez mais sendo empregada e ganhando espaço em análises de quantificação de taninos condensados a partir da curva de

calibração de uma variedade de alimentos, por possibilitar o uso da própria amostra como padrão. Embora seja considerada uma metodologia onerosa e laboriosa.

Tabela 4. Frações de taninos condensados em g/kg de leguminosas nativas da caatinga, através da metodologia do HCl-Butanol, conforme as frações da planta

| <b>Frações</b>                             | <b>Estratos</b> |
|--|-----------------|
| <b>Jurema Preta (Folhas com Hastes)</b>    |                 |
| ECT  | 13,20 ± 6,1     |
| PBCT                                       | 29,20 ± 3,9     |
| FBCT                                       | 7,50 ± 3,6      |
| <b>Jurema Preta (Casca)</b>                |                 |
| ECT  | 121,3 ± 13,1    |
| PBCT                                       | 230,4 ± 27,0    |
| FBCT                                       | 21,6 ± 5,0      |
| <b>Angico Vermelho (Folhas com Hastes)</b> |                 |
| ECT  | 33,0 ± 5,4      |
| PBCT                                       | 18,9 ± 1,2      |
| FBCT                                       | 3,80 ± 0,2      |
| <b>Angico Vermelho (Casca)</b>             |                 |
| ECT  | 90,8 ± 11,2     |
| PBCT                                       | 26,8 ± 3,0      |
| FBCT                                       | 8,2 ± 1,3       |
| <b>Catingueira (Folhas com Hastes)</b>     |                 |
| ECT  | 62,1 ± 14,0     |
| PBCT                                       | 23,0 ± 2,2      |
| FBCT                                       | 12,4 ± 1,5      |
| <b>Catingueira (Casca)</b>                 |                 |
| ECT  | 115,1 ± 43,0    |
| PBCT                                       | 17,0 ± 1,8      |
| FBCT                                       | 2,10 ± 0,1      |

ECT – Taninos condensados solúveis;

PBCT – Taninos condensados ligado à proteína;

FBCT – Taninos condensados ligado à fibra.

Tanto para o estrato folhas com haste, como para casca de todas as espécies leguminosas avaliadas a fração FBCT foi a que apresentou as menores concentrações, concluindo que apesar de haver uma complexação dos taninos condensados com as diferentes frações da planta, ele se expressa em menor proporção com a fração fibrosa da mesma. Para jurema preta a fração de PBCT, tanto das folhas com haste, quanto casca foram maiores que as outras frações, possivelmente segundo Naumann *et al.* (2014) este fato se deve ao maior peso molecular dos taninos condensados desta espécie, que exibem

maior afinidade e eficiência de ligação com proteínas e carboidratos do que os taninos com peso molecular menor.

Os taninos possuem capacidade de complexação com outras moléculas devido à presença de grupamentos hidroxila na estrutura química e, por esse motivo, são capazes de exercer efeitos benéficos ou adversos, dependendo da sua concentração e natureza, além da espécie vegetal (MAKKAR *et al.*, 2007).

Atualmente a identificação e quantificação dos compostos secundários, mais especificamente dos taninos condensados em diferentes vegetais, se encontra em ascensão e deve ser ressaltado, uma vez que identificados e devidamente quantificados, podem explicar uma série de questionamentos levantados quanto a sua aplicabilidade e comportamento.

## **CONCLUSÃO**

As leguminosas avaliadas apresentam potencial de uso no setor químico industrial ou em alternativa a substituição de grupamentos químicos sintéticos vinculados a saúde e nutrição humana e animal, diante de seus altos teores de taninos condensados.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, L. A de. Determinação de taninos em extratos de cascas de banana / (Monografia) – Graduação em Engenharia Química (UNIFAL). Poços de Caldas, 30 f. 2014.

AOAC,. Association of Official Analytical, Official Methods of Analysis. 15th Edition. Arlington, VA. 1990

AOAC,. Association of Official Analytical, Official Methods of Analysis. 16th Edition. Arlington, VA. 1995

BEZERRA, D. A. C. Estudo fitoquímico, bromatológico e microbiológico de *Mimosa tenuiflora* (Wild) Poiret *Piptadenia stipulacea* (Benth) Ducke. (Dissertação) - Patos – PB: CSTR UFCG, 62P. 2008.

BEELEN, P. M. G. et al. Influence of condensed tannins from Brazilian semi-aride legumes on ruminal degradability, microbial colonization and enzymatic activity. **Small Ruminant Research**, v. 61, n. 1, p. 35-44, 2006.

CARVALHO, M. V. B. M. A.; FERREIRA, R. L. C.; SANTOS, M. V. F.; DUBEUX JÚNIOR, J. C. B. et al. Identificação e composição bromatologica de espécies arbóreas e arbustivas ocorrentes em áreas de pastagens do agreste de Pernambuco. (compact disc). In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38; Piracicaba, 2001. **Anais**. 2001.

CHAGAS, M. G. S. dos; SILVA, M. D. da; CORRÊA, P. G. et al. Conteúdo de água na vegetação em uma paisagem do semi-árido pernambucano utilizando o índice de água por diferença normalizada (IADN). In: XV Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto – SBSR, 2011, Curitiba. **Anais...** Curitiba: INPE, 2011.

GOERING, H. K.; VAN SOEST, P. J. **Forage fiber analysis (Apparatus, reagents, procedures and some applications)**. Washington, DC: USDA, (Agricultural Handbook, 379). 1970.

GUIMARÃES-BEELEN, P. M; BERCHIELLI, T. T.; BUDDINGTON, R.; et al. Efeito dos taninos condensados de forrageiras nativas do semi-árido nordestino sobre o crescimento e atividade celulolítica de *Ruminococcus flavefaciens* FD1. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, n.5, p.910-917, 2006.

LAPA, A. J.; SOUCCAR, C.; LIMA-LANDMAN, M. T. R.; GODINHO, R. O. M. L. Farmacologia e toxicologia de produtos naturais. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre: UFSC; Florianópolis: UFRGS, 2004. p. 247-262.

LICITRA, G.; HERNANDEZ, T. M.; VAN SOEST, P. J. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. **Animal Feed Science Technology**, v.57, p.347-358, 1996.

MAKKAR, H. P. S. et al. Use of Nuclear and Related Techniques to Develop Simple Tannin Assays for Predicting and Improving the Safety and Efficiency of Feeding Ruminants on Tanniniferous Tree Foliage. **FAO/IAEA Working Document IAEA**, vienna, 2007.

MONTEIRO, J. M.; LINS NETO, E. M. F.; AMORIM, E. L. C. et al; Teor de taninos em três espécies medicinais arbóreas simpátricas da caatinga. **Rev. Árvore**. vol.29 no.6 Viçosa Nov./Dec. 2005.

MOREIRA, J. N.; ANDRADE LIRA, M. de; SANTOS, M. V. F. dos; et al. Caracterização da vegetação de caatinga e da dieta de novilhos no Sertão de Pernambuco. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.11, p.1643-1651, 2006.

NAUMANN, H. D.; HAGERMAN, A. E.; LAMBERT, B. D. et al. Molecular weight and protein-precipitating ability of condensed tannins from warm-season perennial legumes, **Journal of Plant Interactions**, v.9, n.1, p.212-219, 2014.

NOZELLA, E. F. Determinação de taninos em plantas com potencial forrageiro para ruminantes. 2001. 58f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura/ Universidade de São Paulo, Piracicaba.

PAES, J.B.; MARINHO, I.V.; LIMA, R.A. et al. Viabilidade técnica dos taninos de quatro espécies florestais de ocorrência no semiárido brasileiro no curtimento de peles. **Ciência Florestal**, v.16, n.4, p.453-462, 2006.

PEEL, M. C.; FINLAYSON, B. L.; MACMAHON, T. A. Updated world map of the Köppen-Geiser climate classification. **Hidrology and Earth System Sciences**, v. 11, 44 p. 1633-1644, 2007.

PEREIRA, F. R. L & QUIRINO, Z. G. M. Fenologia e biologia Floral de neoglaziovia variagata (bromeliácea) na caatinga paraibana. **Rodriguésia**, v. 59, n.4, p. 835-844, 2008.

SNIFFEN, C.J., O'CONNOR, J.D., VAN SOEST, P.J et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v.70, p. 3562-3577, 1992.

SOUZA, R. T. de A. Potencial taninífero da Jurema Preta e Angico Vermelho avaliado por diferentes métodos - 98fs. Dissertação (Mestrado: Ciência animal e Pastagens) – UFRPE/UAG. 2015.

TERRILL, T. H; ROWAN, A. M.; DOUGLAS, G. B. et al. Determination of extractable and bound condensed tannin concentrations in forage plants, protein concentrate meals and cereal grains. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.58, p. 321-329, 1992.

WEISS, W.P. Energy prediction equations for ruminant feeds. In: Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers, 61, 1999, **Proceedings...**, Ithaca: Cornell University, p. 176-185. 1999.



WOLFE R.M, TERRILL T.H AND MUIR J.P. Drying method and origin of standard affect condensed tannin (CT) concentrations in perennial herbaceous legumes using simplified butanol-HCl CT analysis. **J. Sci. Food Agric** 88: 1060–1067. 2008.

## **CAPÍTULO II**

### **EFICÁCIA *IN VITRO* DO EXTRATO PURIFICADO DE TANINOS CONDENSADOS DE *Mimosa tenuiflora* (Wild) Poiret. NO CONTROLE ANTI- HELMÍNTICO DE CAPRINOS**

**Seguindo normas da Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**

***In vitro* efficacy of purified extract of condensed tannins of *Mimosa tenuiflora* (Willd) Poiret. the anthelmintic control goats**

**Abstract** - The gastrointestinal nematode infections represent one of the main causes in limiting the production of small ruminants around the world. The development of resistance of parasites to synthetic anthelmintic, has generated large losses to production. In the search for new alternatives for effective control of these parasites, herbal medicine is presented as a promising sector. We sought to evaluate the anthelmintic potential of purified extract of condensed tannins of *Mimosa tenuiflora* (Willd) Poiret on the larval development of nematodes that affect goats. The determination and quantification of condensed tannins (TC) provided by the method of precipitable protein phenols (PPP). Efficacy was assessed by larval development test (TDL), using the concentrations 37.5; 75; 150; 300; 350 mg / ml of condensed tannin extract. The tests were followed by a positive control 7.5mg / ml of levamisole hydrochloride (Zoetis®) and negative control H<sub>2</sub>O. Polyethylene glycol (PEG) was added to all treatments to inactivate TC to confirm its effect on larvae. The maximum efficacy obtained in TDL was 99.6% at the concentration of 350 mg / ml of condensed tannins. *Mimosa tenuiflora* (Willd) Poiret showed larvicidal activity in vitro on *Haemonchus contortus* goats, making it an excellent alternative for controlling gastrointestinal nematodes in small ruminants.

**Keywords:** Caatinga; bioactivity; secondary compounds; jurema black; gastrointestinal nematodes; semiarid

**Eficácia *in vitro* do extrato purificado de taninos condensados de *Mimosa tenuiflora* (Wild) Poiret. no controle anti-helmíntico de caprinos**

**Resumo** - As infecções por nematódeos gastrintestinais correspondem a uma das principais causas limitantes na produção de pequenos ruminantes em todo o mundo. O desenvolvimento da resistência dos parasitos aos antihelmínticos sintéticos, tem gerado grandes perdas à produção. Na busca por novas alternativas de controle efetivo desses parasitos, a fitoterapia se apresenta como um setor promissor. Buscou-se avaliar o potencial antihelmíntico do extrato purificado de taninos condensados de folhas com haste de *Mimosa tenuiflora* (Willd) Poiret sobre o desenvolvimento larval de nematódeos que acometem caprinos. A determinação e quantificação dos taninos condensados (TC) deu-se pelo método dos fenóis precipitáveis em proteína (PPP). A eficácia foi avaliada pelo teste de desenvolvimento larval (TDL), utilizando-se as concentrações 37,5; 75; 150; 300; 350 mg/ml de extrato de taninos condensados. Os ensaios foram acompanhados por um controle positivo 7,5 mg/ml de Cloridrato de levamisol (Zoetis®) e controle negativo em H<sub>2</sub>O. Polietilenoglicol (PEG) foi adicionado a todos os tratamentos para inativar os TC para confirmar seus efeitos sobre as larvas. A eficácia máxima obtida no TDL foi de 99,6% na concentração de 350 mg/mL de taninos condensados. A *Mimosa tenuiflora* (Willd) Poiret apresentou atividade larvicida *in vitro* sobre *Haemonchus contortus* de caprinos, tornando-se uma excelente alternativa no controle de nematódeos gastrintestinais de pequenos ruminantes.

**Palavras-chave:** Caatinga; bioatividade; compostos secundários; jurema preta; nematódeos gastrintestinais; Semiárido

## INTRODUÇÃO

Os nematódeos gastrintestinais que acometem pequenos ruminantes são responsáveis por consideráveis impactos econômicos na pecuária mundial, principalmente em países tropicais como o Brasil. As parasitoses acarretam elevações significativas no custo de produção, representados pela morte de animais jovens, baixo desempenho reprodutivo e ganho em peso reduzido.

Usualmente, o controle dos nematódeos gastrintestinais é realizado com a administração de anti-helmínticos sintéticos. Contudo, os custos dos medicamentos, a alta probabilidade de resíduos no produto final de origem animal e o crescente desenvolvimento de resistência à maioria dos anti-helmínticos comercializados, tornaram a busca por controles alternativos desses parasitos imprescindível (Athanasiadou *et al.*, 2008; Max *et al.*, 2009)

Como meio alternativo, compostos químicos de plantas com fatores bioativos no controle do parasitismo gastrintestinal estão sendo pesquisados, destacando-se o uso de seus diferentes constituintes, aplicados em estudos *in vitro* e *in vivo* contra espécies de nematódeos gastrintestinais de ruminantes (Almeida *et al.*, 2007). Estes constituintes mais amplamente encontrados nos vegetais são os compostos polifenólicos, ou taninos condensados pertencente ao grupo dos compostos secundários sintetizados por alguns vegetais, seus efeitos sobre a resistência do hospedeiro ao parasitismo têm sido os mais estudados (Hoste *et al.*, 2006).

A região de Caatinga abriga uma grande biodiversidade de plantas com potencial em síntese de compostos secundários, diante dessa capacidade botânica, buscou-se por espécies existentes com vasta distribuição e com conhecida eficiência de síntese desses

compostos, sendo a jurema preta (*Mimosa tenuiflora* (Wild) Poiret) um destaque nesse seguimento.

Os taninos possuem um considerável efeito anti-helmíntico, podendo ser utilizados em controles parasitários ecologicamente sustentáveis. Esse efeito sobre os nematódeos gastrintestinais fornece subsídios para estudos de exploração científico-comercial destes compostos na criação de caprinos e ovinos no Brasil e no mundo (Minho, 2008).

Objetivou-se avaliar o extrato purificado de taninos condensados de folhas com hastes de *Mimosa tenuiflora* (Willd) Poiret em testes de desenvolvimento larval *in vitro* sobre nematódeos gastrintestinais de caprinos para avaliação da existência de propriedades anti-helmínticas.

## MATERIAL E MÉTODOS

### 1. *Local de coleta do material vegetal*

A coleta foi realizada em Sertânia, estado de Pernambuco, Brasil, em área de Caatinga preservada, na microrregião do Sertão do Moxotó a 600 m acima do nível do mar (08°04'25" S; 37°15'52" O).

### 2. *Material vegetal*

A espécie de fabacea utilizada foi a *Mimosa tenuiflora* (Willd) Poiret. escolhida devido à sua vasta representatividade local, pelo conhecimento prévio de seu alto teor de taninos condensados, e por seu consumo voluntário pelos pequenos ruminantes em região de Caatinga.

Na área de coleta foram escolhidas aleatoriamente cinco plantas da espécie, em estágio fenológico estabelecido, sendo coletada de cada uma delas, amostras de folhas com hastes.

### 3. *Obtenção do extrato de taninos condensados*

A partir de uma amostra composta de 60g do material processado, (folhas com hastes). A amostra foi solubilizada em solução de acetona 70% para a eficiente lise celular e extração dos compostos secundários presente na amostra.

A solução passou posteriormente por lavagem com éter etílico para remoção de pigmentos e gorduras e após volatilização dos solventes, o extrato passou por coluna de Sephadex LH-20 (Sigma®) para complexação e obtenção apenas dos taninos condensados (MUELLERHARVEY, 2001). A amostra resultante foi estocada em freezer a -80°C durante uma noite e em seguida imersa em nitrogênio líquido para ser liofilizada, obtendo-se ao final um extrato purificado de tanino condensado.

### 4. *Determinação do teor total dos taninos condensados*

A determinação foi realizada pelo método de quantificação de taninos condensados por fenóis precipitável em proteína (PPP) ou método BSA (HAGERMAN & BUTLER,

1978). A curva padrão da espécie estudada foi comparada com a curva de calibração obtida com o extrato da própria planta.

#### 5. *Coleta das amostras fecais*

As amostras de fezes foram obtidas de 12 caprinos, Saanen, com idade aproximadamente de 5 a 6 meses, infectados naturalmente por nematódeos gastrintestinais. Os animais foram criados em sistema intensivo sob apriscos suspensos na Clínica de bovinos UFRPE-UAG. As amostras de fezes foram coletadas individualmente, diretamente da ampola retal dos animais.

#### 6. *Teste de desenvolvimento larval (TDL)*

Para montagem dos tratamentos, inicialmente foram realizados exames coprológicos imediatamente após a coleta das amostras fecais. Para a contagem de ovos por grama de fezes (OPG) de nematódeos gastrintestinais, foi empregada a técnica (GORDON & WHITLOCK, 1939) modificada (WHITLOCK, 1948), utilizando-se 2 g de fezes de caprinos diluídas em 58 mL de solução hipersaturada de açúcar.

Foram realizadas análises de OPG para cada repetição dos tratamentos, buscando-se maior confiabilidade estatística. O cultivo de larvas de nematódeos gastrintestinais foi realizado pelo método de coprocultura quantitativa descrita por Roberts e O'Sullivan (1950) modificado por Ueno & Gonçalves (1998), que consistia em pesar 2 g de fezes e adicionar 2 mL do extrato nos cultivos tratados ou 2 mL de água destilada nos cultivos controles.

As concentrações dos extratos de folhas com hastes utilizados de um padronizado de Taninos Condensados de *Mimosa tenuiflora* (Wild) Poiret., que foram diluídos em água destilada nas frações (350; 300; 150; 75 e 37,5 mg/mL). Para cada diluição foram utilizados quatro cultivos de larvas, perfazendo um total de 20 cultivos em todas as diluições além de quatro repetições tanto para o controle negativo, quanto positivo. Os cultivos para o grupo controle negativo foi tratados com água destilada e para o grupo controle positivo o fármaco comercial Cloridrato de levamisol (Zoetis®) em dosagem recomendada pelo fabricante 7,5 mg/mL.

Quando obteve um grande número de larvas, buscando-se uma maior eficiência na quantificação, o volume do cultivo no tubo de ensaio foi completado com água para 5 mL, e homogeneizado e colhido uma amostra de 0,5 mL para contagem das larvas. O



número de larvas encontradas foi multiplicado por 10. O número total das larvas observadas foi então dividido por dois, e o resultado expresso em larvas por grama de fezes (LPG).

Para confirmar a relação de eficácia na atuação dos TC sobre as larvas, cada ensaio foi repetido na presença de Polietilenoglicol (PEG). O objetivo na utilização de PEG foi inativar o efeito de TC e comprovar sua viabilidade. Foi utilizado um preparado estoque, por dissolução de 1 g de PEG em 25 mL de água destilada.

### 7. *Identificação do gênero de nematódeos*

Em análise prévia para a identificação dos gêneros de nematódeos presentes, foram realizadas coproculturas e incubadas simultaneamente aos testes de desenvolvimento larval para a obtenção das larvas infectantes. Foram confeccionadas lâminas coradas com lugol e os gêneros diferenciados utilizando-se a chave de Keith (1953).

Na coprocultura, foram identificados nematódeos do gênero *Haemonchus* sp. (98.8 %), e também do gênero *Trichostrongylus* sp. (0.12 %).

### 8. *Análise estatística*

Os valores de larvas desenvolvidas por grama de fezes (LDPG) foram transformados em  $\log(x + 10)$  e os números de L3 convertidos em valores relativos ao número total de ovos e larvas em cada repetição.

Regressão logística (S.A.S 9.3):

$$\frac{\text{casos}}{\text{total}} = \frac{\exp(\beta_0 + \beta_1 X_1)}{1 + \exp(\beta_0 + \beta_1 X_1)}$$

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises foram realizadas com extratos exclusivos de folhas com haste. Estes extratos se apresentaram livres de sais inorgânicos, terpenos, saponinas, ou qualquer outro composto orgânico, apresentando apenas o isolado de taninos condensados, que foi revelado através de reagentes específicos. Sua quantificação foi expressa em 197,02 g/kg MS (Figura 6).

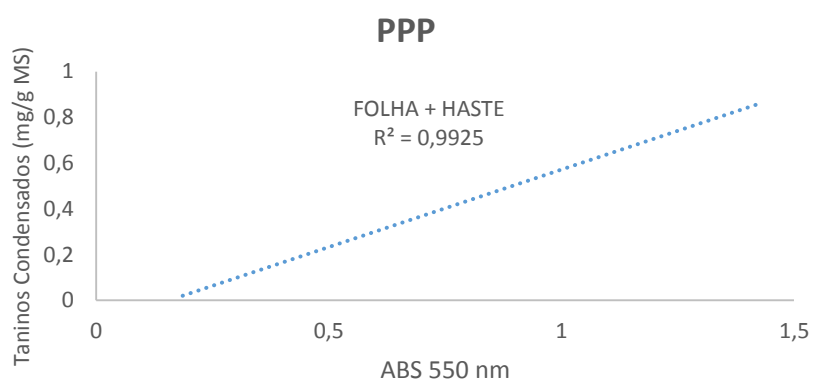


Figura 6: Curvas de calibração utilizadas para estimar a concentração de taninos condensados totais através do método dos Fenóis Precipitáveis por Proteína

Nos testes *in vitro*, as folhas com hastes de *Mimosa tenuiflora* (Willd) Poiret. mostraram-se eficazes na inibição do desenvolvimento larval contra o gênero *Haemonchus spp.* e *Trichostrongylus spp.* (Figura 7 e 8).

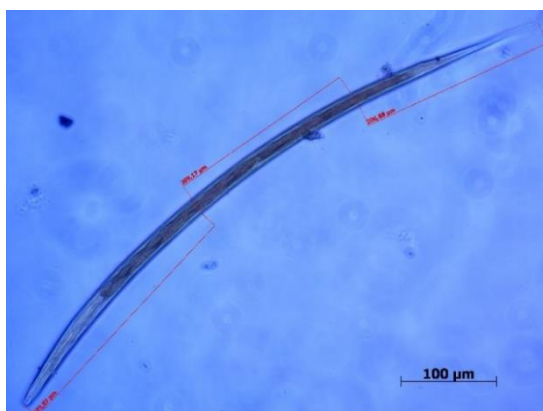


Figura 7: Larva de *Haemonchus spp.*



Figura 8: Ovo de estrongilídeo

Valores acentuados de eficácia foram obtidos na inibição do desenvolvimento larval pela administração da concentração de 350 mg/mL de extrato de TC, mais especificamente com 99,6% de eficácia (Tabela 1).

O percentual de inibição do desenvolvimento larval *in vitro* administrando as concentrações entre 37,5 e 350 mg/mL de *Mimosa tenuiflora* (Willd) Poiret. variou entre 35,9 e 99,6% de eficácia de inibição do desenvolvimento, respectivamente. Com a menor concentração de 37,5 mg/mL de TC o grau de inibição do desenvolvimento se apresentou um pouco superior ao controle negativo, enquanto a maior concentração do extrato com 350 mg/mL, que obteve a maior letalidade dentre os tratamentos, não diferiu estatisticamente do controle positivo (Cloridrato de Levamisol - Zoetis®).

Deve-se, contudo, levar em consideração a alta patogenicidade do *Haemonchus* sp., pois o parasito é hematófago e extremamente resistente. Uma vez que uma infecção por 2.000 nematódeos pode levar a perda de 5% a 7% do volume de sangue do animal por dia (ANDERSON, 1982).

Simultaneamente, o potencial anti-helmíntico do extrato purificado de tanino condensado de *Mimosa tenuiflora* (Willd) Poiret. pode ser comprovado por suas respostas de letalidade nos ensaios, onde a inibição do desenvolvimento larval em proporção média de 50%, foi obtida na dose letal (DL) de 66,6 mg/mL de extrato purificado de TC.

O maior destaque referenciado as plantas taniníferas se dá, provavelmente, sobre o modo de ação no estabelecimento larval, quando larvas de estagio infectante são ingeridos, elas prontamente têm contato com um ambiente consideravelmente desfavorável a sua atuação, devido à presença de taninos condensados no trato gastrintestinal. Ao contrário de plantas ricas em taninos, a grande parte dos anti-helmínticos sintéticos convencionais agem principalmente num amplo espectro de gêneros de nematódeos, onde em alguns casos a infecção se caracteriza basicamente como monoespecífica. Fato esse, um dos principais responsáveis pelo desencadeamento da resistência aos anti-helmínticos convencionais.

Tabela 1: Percentual de eficácia média  $\pm$  DP do extrato de taninos condensados de *Mimosa tenuiflora* (Willd) Poiret. na inibição do desenvolvimento larvar de *Haemonchus contortus* e valor de DL de 50% de eficácia.

| Tratamento                               |                | Concentrações (mg/mL)    | Eficácia % |
|--|----------------|--------------------------|------------|
| Nome científico                          | DL 50%         |                          |            |
| <i>Mimosa tenuiflora</i> (Willd) Poiret. | <b>66,6 mg</b> | 37,5                     | 35,9       |
|  |                | 75                       | 54,1       |
|  |                | 150                      | 83,9       |
|  |                | 300                      | 99,0       |
|  |                | 350                      | 99,6       |
|  |                | Cloridrato de levamisol® | 100,0      |
|  |                | Controle negativo (H2O)  | 21,1       |

DL = Dose Letal

Entretanto, o exato mecanismo de atuação dos taninos condensados ainda está em avanço e não está totalmente compreendido, podendo apresentar modos de ação diferentes, atuando desde o gênero do parasito, até seus diferentes estágios biológicos de desenvolvimento. Logo, seguindo os conceitos de Hoste et al. (2006) os taninos afetarão os processos biológicos dos nematódeos, dependendo de suas formas de complexação com as várias estruturas do parasito, como bainha, cutícula, sistema digestivo ou reprodutivo.

Com as concentrações de taninos condensados administradas, tornou-se possível identificar falta integridade larval e impossibilidade de desembainhamento (Figura 9).



Figura 9: Impossibilidade de desembainhamento devido à falta de integridade larval

Ao interromper o processo de perda de bainha, simultaneamente impede o estabelecimento no hospedeiro e, conseqüentemente, diminui a carga parasitária (HERTZBERG *et al.*, 2002). Esta ação ocorre provavelmente devido a um bloqueio de trocas através da cutícula com o meio, podendo resultar em asfixia ou toxicidade devido ao acúmulo de metabólitos (BRUNET *et al.*; 2011). Semelhante as observações de Sonde Fernex *et al.* (2012) que avaliaram a atividade anti-helmíntica de cinco diferentes plantas contendo TC, e constatou que houve um efeito inibidor sobre a motilidade e desembainhamento de larvas de *H. contortus*. A habilidade dos TC se ligarem às proteínas e alterar as propriedades físicas e químicas das mesmas devem ser considerados, especialmente porque a bainha e a cutícula dos nematódeos são compostas de prolina e hidroxiprolina (FETTERER & RHOADS, 1993). Estruturas químicas enriquecidas de hidrogênio, suficientes para proporcionar ligações fortes.

Quanto a viabilidade de atuação dos TC em suas diferentes concentrações, verifica-se na (Figura 10) em que a curva se comportou de forma gradual crescente de acordo com os níveis em mg/mL de TC de cada tratamento. O controle negativo obteve um pouco mais de 21% de mortalidade natural, podemos associar tal efeito aos fatores biológicos que acometem o tratamento. Destaca-se o ápice da linha de tendência, alcançado quando os pontos de 350mg/ml de TC do tratamento atinge cerca de 100% de eficácia.

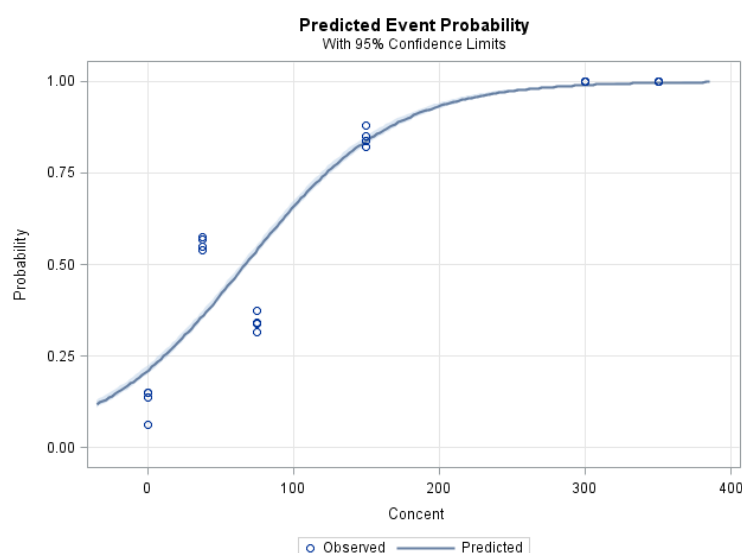


Figura 10: Curva de regressão do comportamento da eficácia do extrato purificado de tanino condensado de *Mimosa tenuiflora* (Willd) Poiret na inibição do desenvolvimento larval de nematódeos gastrintestinais de caprinos.

Para maior validação do potencial da atuação entre os TC e as larvas infectantes, foram realizados simultaneamente sob as mesmas condições e concentrações de TC, réplicas do TDL, só que desta vez acrescidos todos os tratamentos com Polietilenoglicol (PEG). Visto que este polímero sintético apresenta forte atuação na complexação com moléculas por meio de suas pontes de hidrogênio, desse modo, tendo afinidade pelas moléculas de TC, sua adição inibiu a atuação dos TC sobre o desenvolvimento larval. Este propósito ficou bem esclarecido na (Figura 11).

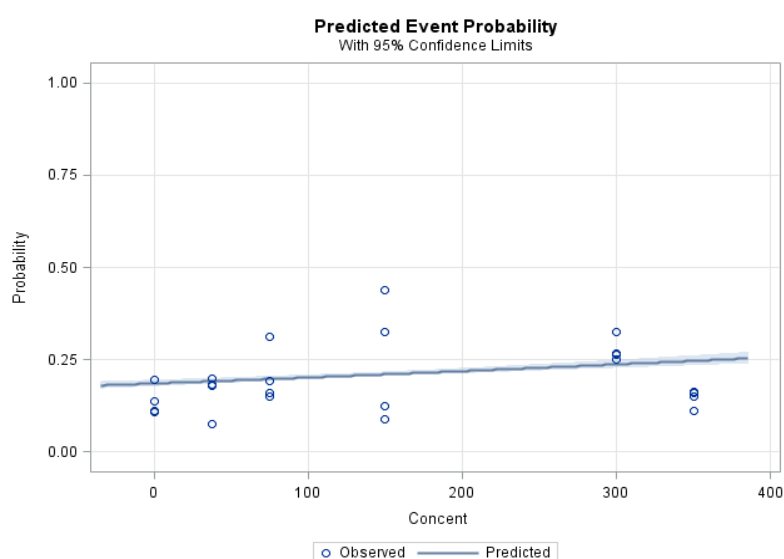


Figura 11: Curva de regressão do comportamento do extrato purificado de tanino condensado de *Mimosa tenuiflora* (Willd) Poiret acrescido com PEG na inibição do desenvolvimento larval de nematódeos gastrintestinais de caprinos.

Diferente da curva estimada para os tratamentos que não continham adição de PEG, as réplicas dos tratamento com PEG mostram que pela inatividade dos TC o desenvolvimento larval ocorreu de forma estável, sem nenhuma interferência, podendo descartar efeitos abióticos e comprovando a eficácia de complexação e inibição do desenvolvimento larval de nematódeos gastrintestinais do gênero *Haemonchus contortus* e *Trichostrongylus colubriformis*, por Taninos Condensados da leguminosa nativa *Mimosa tenuiflora* (Willd) Poiret. (Jurema preta).

A fitoterapia se apresenta como um tratamento atraente no contexto da agropecuária, onde o impacto ambiental e os resíduos de produtos de uso veterinário nos alimentos de origem animal podem ser minimizados, além da possibilidade de redução de custos, do tempo de carência para comercialização e da valorização dos produtos.

Chagas, (2005) ressalta uma vez que ao se aplicar a fitoterapia como tratamento antihelmíntico, deve-se antes de qualquer coisa, prezar pelos princípios éticos e o uso validado cientificamente. Se seu uso é bem compreendido e planejado, ela estimula o cultivo de plantas de interesse, promovendo o desenvolvimento local e evitando a destruição da vegetação nativa.

Alimentando caprinos com vegetais contendo TC no controle antihelmíntico, estes podem representar uma alternativa viável para os anti-helmínticos sintéticos obtidos comercialmente (KAHIYA *et al.*, 2003; MAX *et al.*, 2007) ou como parte de um sistema integrado para reduzir as ocorrências futuras de resistência antihelmíntica de produtos comerciais.

De acordo com Lapa *et al.* (2004), esse tratamento se torna uma ferramenta a mais, que permite aumentar a variedade de produtos a serem utilizados pelos profissionais; ofertando opções terapêuticas de medicamentos equivalentes em eficácia, também registrados, podendo se apresentar mais baratos e com ação mais adequada e, quem sabe, com indicações terapêuticas complementares às medicações existentes.

A principal contribuição que o extrato de TC de *Mimosa tenuiflora* (Willd) Poiret. poderia oferecer no médio a longo prazo, seria a diminuição do número de administrações de antihelmínticos sintéticos e enfática redução de recontaminação das pastagens, aumentando o tempo entre os tratamentos químicos até então convencionais. De modo que, diminuiria a pressão de seleção sobre a população parasitária, minimizando com isso, o risco ou atrasando o desenvolvimento de isolados resistentes às drogas usuais.

Com isso, tornando-se uma alternativa com alto potencial a administração de concentrações de extratos de taninos condensados de folhas *Mimosa tenuiflora* (Willd) Poiret. devido seu alto potencial anti-helmíntico sobre larvas de nematódeos gastrintestinais de caprinos.

## **AGRADECIMENTOS**

À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE), pela concessão de bolsa de Mestrado a Marco Hamilton Barros da Costa Filho. E a Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Unidade Acadêmica de Garanhuns.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSON, N. Internal parasites of sheep and goats. In: COOP, I.E. (ed). Sheep and goat production. World Animal Science, C1. Amsterdam, Oxford, New York: Elsevier, 1982. p.175-191.

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

CHAGAS, A, C, S, Fitoterapia como alternativa no controle de verminose em caprinos e ovinos. EMBRAPA – Caprinos e Ovinos. Separatas (Simpósio); 2005.

FETTERER, R. H.; RHOADS, M. L. Biochemistry of the nematode cuticle: relevance to parasitic nematodes of livestock. *Veterinary Parasitology*, 1993. Amsterdam, v. 46, n. 1-4, p. 103-111.

GIRÃO, E. S. et al. Caprinos e Ovinos (Coleta de fezes para exames parasitológicos).– In: EMBRAPA/MAPA. 1ª ed. Teresina-PI. 2001. Dez.

GORDON H Mcl , WHITLOCK H V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. *J Counc Sci Ind Res*; 1939. 12: 50-2.

HAGERMAN, A. E. & BUTLER, L. G. Protein precipitation method for the quantitative determination of tannins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1978. v. 26, p. 809-812.

HERTZBERG, H., LARSEN, M., MAURER, V. Biological control of helminths in grazing animals using nematophagous fungi. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift*, 2002. 115 (7-8), 278-285.

KAHIYA C, MUKARATIRWA S AND THAMSBORG SM. Effects of *Acacia nilotica* and *Acacia karoo* diets on *Haemonchus contortus* infection in goats. *Vet. Parasitol.* 2003. 115: 265–274.

KEITH, R. K. The differentiation of infective larvae of some common nematode parasites of cattle. *Australian Journal of Zoology*, 1953. Sydney, v. 1, n. 2, p. 223–235.

LAPA, A. J. et al. Farmacologia e toxicologia de produtos naturais. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L.; PETROVICK, P. R. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5. ed. Porto Alegre: UFSC; Florianópolis: UFRGS, 2004. p. 247-262.

MAX R.A., KIMAMBO A. E., et al. Effect of tanniniferous browse meal on nematode faecal egg counts and internal parasite burdens in sheep and goats. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 2007. 37: 97–106.

MUELLER-HARVEY, I. Analysis of hydrolysable tannins. *Anim Feed Science and Technology*, 2001. v.91, p.3-20.

SON-DE FERNEX, E. V.; et al. *In vitro* anthelmintic of five tropical legumes on the exsheathment and motility of *Haemonchus contortus* infective larvae. *Experimental Parasitology*, New York, 2012. v. 131, n. 4, p. 413-418.

UENO, H.; GONÇALVES, P. C. Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes. 3.ed. Tóquio, 1994. 84p.

WHITLOCK H V. Some modifications of the McMaster eggs counting technique and apparatus. *J. Counc. Sci. Ind Res*; 1948. 21; 177-80.

**APÊNDICE I**

Tabela 1A. Teores de taninos condensados totais em g/kg MS obtidos segundo a metodologia do HCl-Butanol

| <b>Amostra</b>        | <b>Repetição</b> | <b>Total</b> |
|-----------------------|------------------|--------------|
| Jurema preta F + H    | R1               | 116,4        |
| Jurema preta F + H    | R2               | 136,5        |
| Jurema preta F + H    | R3               | 91,8         |
| Jurema preta F + H    | R4               | 126,1        |
| Jurema preta F + H    | R5               | 114,7        |
| Jurema preta Casca    | R1               | 359,6        |
| Jurema preta Casca    | R2               | 319,0        |
| Jurema preta Casca    | R3               | 412,6        |
| Jurema preta Casca    | R4               | 381,1        |
| Jurema preta Casca    | R5               | 394,0        |
| Angico Vermelho F + H | R1               | 59,0         |
| Angico Vermelho F + H | R2               | 52,2         |
| Angico Vermelho F + H | R3               | 47,9         |
| Angico Vermelho F + H | R4               | 51,6         |
| Angico Vermelho F + H | R5               | 68,1         |
| Angico Vermelho Casca | R1               | 131,2        |
| Angico Vermelho Casca | R2               | 109,4        |
| Angico Vermelho Casca | R3               | 148,1        |
| Angico Vermelho Casca | R4               | 138,0        |
| Angico Vermelho Casca | R5               | 101,8        |
| Catingueira F + H     | R1               | 94,5         |
| Catingueira F + H     | R2               | 113,6        |
| Catingueira F + H     | R3               | 64,3         |
| Catingueira F + H     | R4               | 86,0         |
| Catingueira F + H     | R5               | 129,0        |
| Catingueira Casca     | R1               | 264,3        |
| Catingueira Casca     | R2               | 83,2         |
| Catingueira Casca     | R3               | 96,7         |
| Catingueira Casca     | R4               | 104,1        |
| Catingueira Casca     | R5               | 122,7        |

Tabela 2A. Teores das frações de taninos condensados em g/ kg obtidos através da metodologia do HCl-Butanol

| <b>Amostra</b> | <b>Estrato</b> | <b>Repetição</b> | <b>ECT</b> | <b>PBCT</b> | <b>FBCT</b> |
|----------------|----------------|------------------|------------|-------------|-------------|
| Jurema Preta   | F+ H           | R1               | 3,70       | 35,8        | 7,69        |
| Jurema Preta   | F+ H           | R2               | 29,8       | 28,9        | 7,78        |
| Jurema Preta   | F+ H           | R3               | 6,10       | 18,0        | 6,77        |
| Jurema Preta   | F+ H           | R4               | 11,7       | 34,1        | 8,02        |
| Jurema Preta   | F+ H           | R5               | 14,9       | 29,0        | 7,07        |
| Jurema Preta   | Casca          | R1               | 130,5      | 211,1       | 18,02       |
| Jurema Preta   | Casca          | R2               | 103,5      | 193,9       | 21,63       |
| Jurema Preta   | Casca          | R3               | 99,9       | 280,8       | 31,95       |
| Jurema Preta   | Casca          | R4               | 149,9      | 205,1       | 26,02       |
| Jurema Preta   | Casca          | R5               | 122,8      | 261,0       | 10,19       |
| Angico         | F + H          | R1               | 35,9       | 18,7        | 4,39        |
| Angico         | F + H          | R2               | 26,5       | 22,2        | 3,51        |
| Angico         | F + H          | R3               | 27,8       | 16,4        | 3,69        |
| Angico         | F + H          | R4               | 28,6       | 19,3        | 3,69        |
| Angico         | F + H          | R5               | 46,4       | 18,1        | 3,57        |
| Angico         | Casca          | R1               | 90,8       | 30,7        | 9,79        |
| Angico         | Casca          | R2               | 73,0       | 27,2        | 9,14        |
| Angico         | Casca          | R3               | 116,7      | 21,9        | 9,60        |
| Angico         | Casca          | R4               | 98,5       | 31,4        | 8,00        |
| Angico         | Casca          | R5               | 74,9       | 22,6        | 4,29        |
| Catingueira    | F + H          | R1               | 59,3       | 21,2        | 13,96       |
| Catingueira    | F + H          | R2               | 70,3       | 29,3        | 13,96       |
| Catingueira    | F + H          | R3               | 33,9       | 20,2        | 10,22       |
| Catingueira    | F + H          | R4               | 51,1       | 21,2        | 13,76       |
| Catingueira    | F + H          | R5               | 95,7       | 23,2        | 10,01       |
| Catingueira    | Casca          | R1               | 244,1      | 18,3        | 1,91        |
| Catingueira    | Casca          | R2               | 61,8       | 19,1        | 2,31        |
| Catingueira    | Casca          | R3               | 75,5       | 19,1        | 2,07        |
| Catingueira    | Casca          | R4               | 88,3       | 13,5        | 2,39        |
| Catingueira    | Casca          | R5               | 105,7      | 15,1        | 1,99        |

Tabela 3A. Absorbâncias das amostras das frações de taninos condensados solúveis, ligado a proteína e fibra (Método Butanol-HCl)

| <b>Amostra</b>  | <b>Etrato</b> | <b>Absorbância<br/>ECT</b> | <b>Absorbância<br/>PBCT</b> | <b>Absorbância<br/>FBCT</b> |
|-----------------|---------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| Jurema Preta R1 | Folha + Haste | 0,146                      | 0,258                       | 0,573                       |
| Jurema Preta R2 | Folha + Haste | 0,406                      | 0,205                       | 0,580                       |
| Jurema Preta R3 | Folha + Haste | 0,170                      | 0,121                       | 0,503                       |
| Jurema Preta R4 | Folha + Haste | 0,226                      | 0,245                       | 0,599                       |
| Jurema Preta R5 | Folha + Haste | 0,258                      | 0,206                       | 0,526                       |
| Jurema Preta R1 | Casca         | 0,929                      | 0,249                       | 0,213                       |
| Jurema Preta R2 | Casca         | 0,743                      | 0,229                       | 0,255                       |
| Jurema Preta R3 | Casca         | 0,718                      | 0,330                       | 0,375                       |
| Jurema Preta R4 | Casca         | 1,063                      | 0,242                       | 0,306                       |
| Jurema Preta R5 | Casca         | 0,876                      | 0,307                       | 0,122                       |
| Angico R1       | Folha + Haste | 0,119                      | 0,027                       | 0,070                       |
| Angico R2       | Folha + Haste | 0,084                      | 0,033                       | 0,055                       |
| Angico R3       | Folha + Haste | 0,089                      | 0,023                       | 0,058                       |
| Angico R4       | Folha + Haste | 0,092                      | 0,028                       | 0,058                       |
| Angico R5       | Folha + Haste | 0,158                      | 0,026                       | 0,056                       |
| Angico R1       | Casca         | 1,230                      | 0,064                       | 0,240                       |
| Angico R2       | Casca         | 1,005                      | 0,055                       | 0,223                       |
| Angico R3       | Casca         | 1,557                      | 0,041                       | 0,235                       |
| Angico R4       | Casca         | 1,328                      | 0,066                       | 0,193                       |
| Angico R5       | Casca         | 1,029                      | 0,043                       | 0,096                       |
| Catingueira R1  | Folha + Haste | 0,081                      | 0,016                       | 0,133                       |
| Catingueira R2  | Folha + Haste | 0,097                      | 0,024                       | 0,133                       |
| Catingueira R3  | Folha + Haste | 0,044                      | 0,015                       | 0,096                       |
| Catingueira R4  | Folha + Haste | 0,069                      | 0,016                       | 0,131                       |
| Catingueira R5  | Folha + Haste | 0,134                      | 0,018                       | 0,094                       |
| Catingueira R1  | Casca         | 1,350                      | 0,025                       | 0,026                       |
| Catingueira R2  | Casca         | 0,323                      | 0,026                       | 0,031                       |
| Catingueira R3  | Casca         | 0,400                      | 0,026                       | 0,028                       |
| Catingueira R4  | Casca         | 0,472                      | 0,019                       | 0,032                       |
| Catingueira R5  | Casca         | 0,570                      | 0,021                       | 0,027                       |

Tabela 4A. Absorbâncias das diluições para obtenção das curvas de calibração para leitura das frações de taninos condensados solúveis (Método Butanol-HCl)

| <b>Amostra</b> | <b>Estrato</b> | <b>Absorbância</b> | <b>Diluições (%)</b> |
|----------------|----------------|--------------------|----------------------|
| Jurema Preta   | Folha + Haste  | 1,530              | 15                   |
|                |                | 1,271              | 12                   |
|                |                | 1,168              | 10                   |
|                |                | 0,925              | 7,5                  |
|                |                | 0,645              | 5                    |
|                |                | 0,351              | 2,5                  |
|                |                | 0,150              | 1                    |
| Jurema Preta   | Casca          | 1,370              | 20                   |
|                |                | 1,064              | 15                   |
|                |                | 0,828              | 12                   |
|                |                | 0,751              | 10                   |
|                |                | 0,622              | 7,5                  |
|                |                | 0,413              | 5                    |
|                |                | 0,133              | 2,5                  |
| Angico         | Folha + Haste  | 0,541              | 15                   |
|                |                | 0,420              | 12                   |
|                |                | 0,363              | 10                   |
|                |                | 0,284              | 7,5                  |
|                |                | 0,163              | 5                    |
|                |                | 0,076              | 2,5                  |
|                |                | 0,022              | 1                    |
| Angico         | Casca          | 1,736              | 15                   |
|                |                | 1,615              | 12                   |
|                |                | 1,509              | 10                   |
|                |                | 1,115              | 7,5                  |
|                |                | 0,759              | 5                    |
|                |                | 0,459              | 2,5                  |
|                |                | 0,08               | 1                    |
| Catingueira    | Folha + Haste  | 0,211              | 15                   |
|                |                | 0,174              | 12                   |
|                |                | 0,140              | 10                   |
|                |                | 0,093              | 7,5                  |
|                |                | 0,071              | 5                    |
|                |                | 0,039              | 2,5                  |
|                |                | 0,005              | 1                    |
| Catingueira    | Casca          | 0,841              | 15                   |
|                |                | 0,649              | 12                   |
|                |                | 0,474              | 10                   |
|                |                | 0,382              | 7,5                  |
|                |                | 0,314              | 5                    |
|                |                | 0,108              | 2,5                  |
|                |                | 0,036              | 1                    |

Tabela 5A. Absorbâncias das diluições para obtenção das curvas de calibração para leitura das frações de taninos condensados ligado a proteína e fibra (Método Butanol-HCl)

| <b>Amostra</b> | <b>Etrato</b> | <b>Absorbância</b> | <b>Diluições (%)</b> |
|----------------|---------------|--------------------|----------------------|
| Jurema Preta   | Folha + Haste | 1,085              | 15                   |
|                |               | 1,001              | 12                   |
|                |               | 0,691              | 10                   |
|                |               | 0,554              | 7,5                  |
|                |               | 0,340              | 5                    |
|                |               | 0,200              | 2,5                  |
|                |               | 0,073              | 1                    |
| Jurema Preta   | Casca         | 0,170              | 15                   |
|                |               | 0,148              | 12                   |
|                |               | 0,123              | 10                   |
|                |               | 0,096              | 7,5                  |
|                |               | 0,058              | 5                    |
|                |               | 0,034              | 2,5                  |
|                |               | 0,013              | 1                    |
| Angico         | Folha + Haste | 0,248              | 15                   |
|                |               | 0,198              | 12                   |
|                |               | 0,174              | 10                   |
|                |               | 0,120              | 7,5                  |
|                |               | 0,083              | 5                    |
|                |               | 0,034              | 2,5                  |
|                |               | 0,013              | 1                    |
| Angico         | Casca         | 0,358              | 15                   |
|                |               | 0,320              | 12                   |
|                |               | 0,235              | 10                   |
|                |               | 0,184              | 7,5                  |
|                |               | 0,124              | 5                    |
|                |               | 0,046              | 2,5                  |
|                |               | 0,007              | 1                    |
| Catingueira    | Folha + Haste | 0,145              | 15                   |
|                |               | 0,108              | 12                   |
|                |               | 0,098              | 10                   |
|                |               | 0,070              | 7,5                  |
|                |               | 0,042              | 5                    |
|                |               | 0,017              | 2,5                  |
|                |               | 0,009              | 1                    |
| Catingueira    | Casca         | 0,181              | 15                   |
|                |               | 0,158              | 12                   |
|                |               | 0,135              | 10                   |
|                |               | 0,091              | 7,5                  |
|                |               | 0,059              | 5                    |
|                |               | 0,036              | 2,5                  |
|                |               | 0,016              | 1                    |



Tabela 6A. Absorbâncias das diluições para obtenção das curvas de calibração para leitura da fração de taninos condensados totais (Método PPP)

| <b>Amostra</b> | <b>Estrato</b> | <b>Absorbância</b> | <b>Diluições (mg/g TC)</b> |
|----------------|----------------|--------------------|----------------------------|
| Jurema Preta   | Folha + Haste  | 0,142              | 0,05                       |
|                |                | 0,364              | 0,1                        |
|                |                | 0,698              | 0,30                       |
|                |                | 0,938              | 0,50                       |
|                |                | 1,225              | 0,70                       |
|                |                | 1,423              | 0,90                       |
| Jurema Preta   | Casca          | 0,067              | 0,05                       |
|                |                | 0,175              | 0,1                        |
|                |                | 0,436              | 0,30                       |
|                |                | 0,554              | 0,50                       |
|                |                | 0,630              | 0,70                       |
|                |                | 0,784              | 0,90                       |
|                |                | 0,902              | 1,10                       |

Tabela 7A. Absorbâncias das amostras das frações de taninos condensados total (Método PPP)

| <b>Amostra</b>  | <b>Estrato</b> | <b>*ASA (mg)</b> | <b>Absorbância</b> |
|-----------------|----------------|------------------|--------------------|
| JUREMA PRETA R1 | Folha + Haste  | 50,9             | 0,186              |
| JUREMA PRETA R2 | Folha + Haste  | 50,2             | 0,346              |
| JUREMA PRETA R3 | Folha + Haste  | 50,9             | 0,907              |
| JUREMA PRETA R4 | Folha + Haste  | 50,8             | 1,192              |
| JUREMA PRETA R5 | Folha + Haste  | 50,3             | 1,301              |
| JUREMA PRETA R1 | Casca          | 50,0             | 0,067              |
| JUREMA PRETA R2 | Casca          | 50,4             | 0,175              |
| JUREMA PRETA R3 | Casca          | 50,2             | 0,440              |
| JUREMA PRETA R4 | Casca          | 50,5             | 0,630              |
| JUREMA PRETA R5 | Casca          | 50,1             | 0,742              |

\*ASA: Amostra Seca ao Ar

Tabela 8A: Número de ovos por gramas de fezes incubados para TDL e o efetivo de larvas obtidas de cada ensaio

| TRATAMENTOS SEM PEG |      |      |     | TRATAMENTOS COM PEG |      |      |     |
|---------------------|------|------|-----|---------------------|------|------|-----|
| Trat.               | Rep. | *OPG | *LD | Trat.               | Rep. | *OPG | *LD |
| 350 mg/ml           | 1    | 600  | 0   | 350 mg/ml           | 1    | 400  | 335 |
|                     | 2    | 800  | 0   |                     | 2    | 400  | 355 |
|                     | 3    | 400  | 0   |                     | 3    | 600  | 510 |
|                     | 4    | 600  | 0   |                     | 4    | 500  | 420 |
| 300 mg/ml           | 1    | 500  | 1   | 300 mg/ml           | 1    | 700  | 515 |
|                     | 2    | 300  | 0   |                     | 2    | 600  | 440 |
|                     | 3    | 400  | 0   |                     | 3    | 600  | 450 |
|                     | 4    | 600  | 1   |                     | 4    | 400  | 270 |
| 150 mg/ml           | 1    | 700  | 126 | 150 mg/ml           | 1    | 1200 | 675 |
|                     | 2    | 400  | 48  |                     | 2    | 400  | 365 |
|                     | 3    | 500  | 75  |                     | 3    | 400  | 350 |
|                     | 4    | 400  | 65  |                     | 4    | 800  | 540 |
| 75 mg/ml            | 1    | 400  | 265 | 75 mg/ml            | 1    | 600  | 485 |
|                     | 2    | 600  | 410 |                     | 2    | 800  | 550 |
|                     | 3    | 400  | 250 |                     | 3    | 600  | 510 |
|                     | 4    | 500  | 330 |                     | 4    | 500  | 420 |
| 37,5 mg/ml          | 1    | 800  | 370 | 37,5 mg/ml          | 1    | 800  | 640 |
|                     | 2    | 600  | 255 |                     | 2    | 700  | 575 |
|                     | 3    | 800  | 345 |                     | 3    | 600  | 555 |
|                     | 4    | 400  | 180 |                     | 4    | 800  | 655 |
| H2O                 | 1    | 400  | 375 | H2O                 | 1    | 700  | 605 |
|                     | 2    | 400  | 345 |                     | 2    | 600  | 535 |
|                     | 3    | 700  | 595 |                     | 3    | 800  | 645 |
|                     | 4    | 600  | 510 |                     | 4    | 800  | 710 |
| Clor. Lev.          | 1    | 600  | 0   | Clor. Lev.          | 1    | 500  | 0   |
|                     | 2    | 800  | 0   |                     | 2    | 600  | 0   |
|                     | 3    | 500  | 0   |                     | 3    | 400  | 0   |
|                     | 4    | 600  | 0   |                     | 4    | 700  | 1   |

\*OPG: número de ovos desenvolvidos por grama de fezes; \*LD: número de larvas desenvolvidas; PEG: Polietilenoglicol

**APÊNDICE II**



Figura 1A: Coleta da fração folha com hastes de Jurema Preta



Figura 2A: Coleta da fração casca de Jurema Preta





Figura 3A: Coleta da fração folha com hastes de Angico Vermelho



Figura 4A: Coleta da fração casca de Angico Vermelho



Figura 5A: Coleta da fração folha com hastes da Catingueira



Figura 6A: Coleta da fração casca da Catingueira





Figura 7A: Coleta de fezes na ampola retal de caprinos



Figura 8A: Recipientes de coprocultura prontos para incubação



Figura 9A: Tratamentos após incubação, em momento de migração larval

**ANEXO**



**Normas para submissão de trabalhos científicos**  
*Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*  
*Brazilian Journal of Veterinary Parasitology*

**INSTRUÇÕES AOS AUTORES**

**Apresentação**

A Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária é um órgão oficial de divulgação do Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária (CBPV). Tem como objetivo publicar temas relativos a Helmintos, Protozoários, Artrópodes e Rickettsias bem como assuntos correlatos. A revista tem periodicidade trimestral. São aceitas submissões de manuscritos, em inglês, de pesquisadores de qualquer país, associados ou não ao CBPV. Este periódico oferece a todos os pesquisadores acesso eletrônico livre para consulta de todos os trabalhos, desde seu primeiro volume publicado em 1992.

**Política Editorial**

Os artigos submetidos à Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária deverão caracterizar-se como científicos e originais, essencialmente sobre parasitas de animais em geral.

O(s) autor(res) deverá(ão) anexar uma carta, previamente assinada, responsabilizando-se pela originalidade do artigo, salvo resumo(s) apresentado(s) em eventos científicos, não submetidos à publicação em outros periódicos. Trabalhos com mais de uma autoria deverão seguir com uma declaração de concordância de todos os autores, referente à publicação. Trabalhos com número excessivo de autores deverão ser avaliados pelos editores científicos assistentes, em relação ao protocolo experimental. É necessária a colaboração substancial de todos os autores no planejamento do estudo, obtenção, análise e interpretação de resultados, confecção do artigo e aprovação da versão final submetida e aceita. Colaboradores que não tiveram participação ativa em todo o processo descrito acima poderão ser listados na seção de agradecimentos. Poderá haver agradecimento ao pesquisador que forneceu auxílio técnico, correção ou sugestão na escrita, ou ao chefe de departamento que proporcionou infraestrutura para elaboração do trabalho. O processo de avaliação do trabalho dependerá da observância das Normas Editoriais, dos Pareceres do Corpo Editorial e/ou do Relator *ad-hoc*. Nesse processo, o editor-chefe e os editores científicos assistentes poderão sugerir ou solicitar as modificações necessárias, apesar de ser de responsabilidade dos autores os conceitos emitidos. Os artigos submetidos serão avaliados por, no mínimo, 3 revisores anônimos, selecionados pelo editor-chefe e editores científicos assistentes. A Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária atribui a seus artigos as categorias de: Artigos Completos, Notas de Pesquisa e Artigos de Revisão, sendo este último escrito por especialistas e condicionado a solicitação por convite do editor-chefe. Revisões não solicitadas não serão aceitas, mas o tópico da revisão pode ser sugerido, previamente, ao editor-chefe ou editores científicos assistentes.

**Submissão de trabalhos:**

O artigo a ser submetido deve passar por revisão do inglês, pelos revisores credenciados pela RBPV ([http://cbpv.org.br/rbpv/revisoes\\_traducoes.php](http://cbpv.org.br/rbpv/revisoes_traducoes.php)). Junto ao trabalho submetido anexar o certificado de revisão de inglês. Os pesquisadores deverão assumir os custos da revisão.

**Taxa de publicação:**

Após o aceite do artigo, será cobrada as seguintes taxas de publicação:  
 R\$ 250,00 (associados do CBPV em dia com as anuidades);  
 R\$ 500,00 (não-associados do CBPV).

Dados bancários para depósito:

Nome: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária/ Revista

Banco do Brasil (001)

Agência: 0269-0

Conta Corrente: 28848-9

Para autores estrangeiros:

SWIFT BRASBRRJRPO

IBAN 001026900000288489

Endereço: Via de acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, Zona Rural. CEP: 14884-900. Jaboticabal – SP, Brasil.

**Processo de avaliação pelos pares**

O processo de avaliação do trabalho dependerá da observância das Normas Editoriais, dos Pareceres do Corpo Editorial e/ou do Relator ad-hoc. Os artigos submetidos serão avaliados por, no mínimo, 3 revisores anônimos, selecionados pelo editor-chefe e editores científicos assistentes.

O relator deverá preencher o formulário de avaliação da RBPV, disponível no sistema on-line de submissão (<http://mc04.manuscriptcentral.com/rbpv-scielo>). Tendo recebido a avaliação de pelo menos 2 dos revisores selecionados, o(s) autor(es) receberá (ão) os formulários de avaliação e possíveis correções feitas diretamente no texto. O avaliador poderá corrigir novamente o artigo, se necessário.

O artigo a ser submetido deve passar por revisão do inglês, pelos revisores credenciados pela RBPV ([http://cbpv.org.br/rbpv/revisoes\\_traducoes.php](http://cbpv.org.br/rbpv/revisoes_traducoes.php)). Junto ao trabalho submetido anexar o certificado de revisão de inglês. Os pesquisadores deverão assumir os custos da revisão. Lembramos aos autores, que a RBPV não repassa aos mesmos, os custos de publicação por página dos trabalhos. Não seguindo as exigências do processo de submissão, o trabalho não entrará no processo de avaliação.

Após diagramação e editoração, os editores científicos assistentes e a editora-chefe da revista, fazem as correções finais.

*Transferência de direitos autorais:*

Ao ser submetido, o artigo deve vir acompanhado de um ofício, assinado por todos os autores, concordando com a submissão e, caso aprovado, a publicação do artigo apenas na RBPV.

**Ética**

Experimentos que utilizam animais deverão ser conduzidos obedecendo às normas aprovadas pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (<http://www.cobea.org.br>), devendo os autores apresentarem o número de protocolo de submissão e aprovação dos trabalhos em Comissão de Ética e Bem-Estar Animal.

## **Apresentação dos Manuscritos**

### **Na elaboração do texto serão observadas as seguintes normas:**

Os trabalhos devem ser submetidos em inglês, de forma concisa, com linguagem impessoal e com os sinais de chamadas de rodapé em números arábicos, lançados ao pé da página em que estiver o respectivo número e em ordem crescente. Os trabalhos deverão ser apresentados em fonte “Times New Roman”, tamanho 12, com margem superior e inferior de 2,5 cm, esquerda e direita com 3 cm e espaçamento entre linhas de 1,5 cm com as páginas numeradas. Para a categoria Artigo Completo, o trabalho não deverá exceder 15 páginas, quando da diagramação final. Para a categoria Notas de Pesquisa, o trabalho não deverá exceder 5 páginas, quando da diagramação final. As tabelas e ilustrações deverão ser apresentadas separadas do texto e anexadas ao final do trabalho, sem legendas. As respectivas legendas deverão vir no texto logo após as referências bibliográficas. Ao submeter o artigo, anexar o comprovante de depósito, via endereço eletrônico: <http://www.scielo.br/rbpv>. Os trabalhos aceitos deverão ser revisados por um dos revisores de língua inglesa credenciados pela RBPV, de escolha e sob responsabilidade dos autores. Os Artigos Completos devem ser organizados obedecendo à seguinte sequência: **Título Original, Título Traduzido, Autor(es), Filiação Institucional, Abstract (Keywords), Resumo (Palavras-chave), Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão, Conclusões** (ou combinação destes três últimos), **Agradecimentos** (facultativo) e **Referências Bibliográficas**. As Notas de Pesquisa obedecem à sequência acima sem a necessidade de se destacar os tópicos, sendo escritas em texto corrido. Para essa categoria, o artigo submetido deve possuir alto grau de ineditismo e originalidade, trazendo resultados novos de importância evidente.

## **Características dos elementos de um trabalho científico**

### **Título Original**

O título “cheio” e o subtítulo (se houver) não devem exceder 15 palavras. Não deverá aparecer nenhuma abreviatura, e os nomes de espécies ou palavras em latim deverão vir em itálico. Evitar (por exemplo) títulos que iniciem com: Estudos preliminares; Observações sobre. Não usar o nome do autor e data de citação em nomes científicos.

### **Autor(es)/Filiação**

Na identificação, deve constar: nome completo e por extenso de todos os autores (sem abreviação). A Filiação Institucional deve informar os nomes próprios de todas as instituições e não suas traduções: Laboratório, Departamento, Faculdade ou Escola, Instituto, Universidade, Cidade, Estado e País, exatamente nessa ordem. No rodapé, deve constar as informações do autor para correspondência: Endereço completo, telefone e e-mail atualizado, nessa ordem.

## **Referências bibliográficas**

As referências bibliográficas só serão admitidas desde que sejam de fácil consulta aos leitores. Não serão aceitas referências de trabalhos publicados em anais de congressos e as teses devem estar disponíveis para consulta em sites oficiais, por exemplo, Banco de Teses da Capes: <http://www.capes.gov.br/servicos/banco-de-teses>. Todas as citações no texto devem ser cuidadosamente checadas em relação aos nomes dos autores e datas, exatamente como aparecem nas referências.

### **“Abstract” e Resumo**

Devem conter no máximo 200 palavras, em um só parágrafo sem deslocamento. Não devem conter citações bibliográficas. Siglas e abreviações de instituições, ao aparecerem pela primeira vez no trabalho, serão colocadas entre parênteses e precedidas do nome por extenso, por exemplo, Indirect Fluorescence Assay (IFA). Devem ser informativos, apresentando o objetivo do trabalho, metodologia sucinta, os resultados mais relevantes e a conclusão. O abstract redigido em língua inglesa e o resumo em língua portuguesa, ambos seguidos por keywords e palavras-chave, respectivamente.

### **Keywords e Palavras-chave**

As palavras-chave devem expressar com precisão o conteúdo do trabalho. São limitadas em no máximo 6 (seis).

### **Introdução**

Explicação clara e objetiva do estudo, da qual devem constar a relevância e objetivos do trabalho, restringindo as citações ao necessário.

### **Material e Métodos**

Descrição concisa, sem omitir o essencial para a compreensão e reprodução do trabalho. Métodos e técnicas já estabelecidos devem ser apenas citados e referenciados. Métodos estatísticos devem ser explicados ao final dessa seção.

### **Resultados**

O conteúdo deve ser informativo e não interpretativo: sempre que necessário devem ser acompanhados de tabelas, figuras ou outras ilustrações autoexplicativas.

### **Discussão**

Deve ser limitada aos resultados obtidos no trabalho e o conteúdo deve ser interpretativo. Poderá ser apresentada como um elemento do texto ou juntamente aos resultados e conclusão. Enfatizar a importância de novos achados e novas hipóteses identificadas claramente com os resultados.

### **Tabelas**

Elaboradas apenas com linhas horizontais de separação no cabeçalho e no final; e devem ser enviadas em formato editável (desejável excel). A legenda (título) é precedida da palavra Tabela, seguida pelo número de ordem em algarismos arábicos, devendo ser descritivas, concisas e inseridas acima das mesmas. As tabelas devem estar limitadas a

um número mínimo necessário. Devem ser digitadas em espaço duplo em arquivos separados.

### **Figuras**

As figuras, tais como: desenho, fotografia, prancha, gráfico, fluxograma e esquema, devem ser enviadas em formato .tif, .gif ou .jpg, com no mínimo de 300 dpi de resolução e numeradas consecutivamente. As legendas devem ser precedidas da palavra Figura, seguida da numeração em algarismo arábico e inseridas abaixo das mesmas. Listar as legendas numeradas com os respectivos símbolos e convenções, em folha separada em espaço duplo. O número de ilustrações deve ser restrito ao mínimo necessário. Fotografias digitais deverão ser enviadas em arquivos separados, como foram obtidas. Se a escala for dada às figuras, utilizar a escala BAR em todas as ilustrações ao invés de numérica, que pode ser alterada com a redução das figuras.

### **Conclusões**

As conclusões podem estar inseridas na discussão ou em resultados e discussão, conforme a escolha dos autores. Nesse caso, esse item não será necessário.

### **Agradecimentos**

Quando necessário, limitados ao indispensável.

### **Referências bibliográficas**

A lista de referências deverá ser apresentada em ordem alfabética e, posteriormente, ordenadas em ordem cronológica, se necessário. Mais de uma referência do(s) mesmo(s) autor(es) no mesmo ano deve ser identificada pelas letras “a”, “b”, “c”, etc, inseridas após o ano de publicação. Títulos de periódicos devem ser abreviados conforme

Index

Medicus

-

<http://www2.bg.am.poznan.pl/czasopisma/medicus.php?lang=eng>.

#### *Livros*

Levine JD. *Veterinary protozoology*. Ames: ISU Press; 1985.

#### *Capítulo de livro*

Menzies PI. Abortion in sheep: diagnosis and control. In: Youngquist RS, Threlfall WR. *Current therapy in large animal theriogenology*. 2nd ed. Philadelphia: Saunders; 2007. p. 667-680.

#### *Artigo de periódico*

Paim F, Souza AP, Bellato V, Sartor AA. Selective control of *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* in fipronil-treated cattle raised on natural pastures in Lages, State of Santa Catarina, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet* 2011; 20(1): 13-16.

#### *Tese e Dissertação*

Araujo MM. *Aspectos ecológicos dos helmintos gastrintestinais de caprinos do município de patos, Paraíba - Brasil* [Dissertação]. Rio de Janeiro: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro; 2002.

#### *Documento eletrônico*

Centers for Disease Control and Prevention. *Epi Info* [online]. 2002 [cited 2003 Jan 10]. Available from: <http://www.cdc.gov/epiinfo/ei2002.htm>.

**Obs.** Nas referências, apresentar os nomes dos seis primeiros autores; para referências com mais de seis autores, apresentar os seis primeiros nomes seguidos da expressão et al.

#### *Citações*

As citações devem seguir o sistema autor-data:

**Um autor:** nome do autor e ano de publicação

Levine (1985) ou (LEVINE, 1985)

**Dois autores:** os nomes dos autores e ano da publicação

Paim e Souza (2011) ou (PAIM & SOUZA, 2011)

**Três ou mais autores:** nome do primeiro autor seguido de “et al.” e o ano de publicação

Araújo et al. (2002) ou (ARAÚJO et al., 2002)

#### **Prova Gráfica**

O trabalho diagramado em formato pdf., será enviado por e-mail ao autor correspondente. Alterações no artigo, quando aceitas para publicação, devem ser realizadas nesse estágio, com permissão do editor-chefe. Portanto, o trabalho deve ser cuidadosamente corrigido antes de responder ao editor, pois inclusões de correções subsequentes (indicação de novo autor, mudança de parágrafos inteiros ou tabelas) não podem ser garantidas.

**ANEXO II**

## **NORMAS SUBMISSÃO – REVISTA CAATINGA**

Os artigos submetidos à Revista Caatinga devem ser originais, ainda não relatados ou submetidos à publicação em outro periódico ou veículo de divulgação. **A Revista Caatinga publica ARTIGO, NOTA TÉCNICA E REVISÃO DE LITERATURA.**

### **FORMAS DE ENVIO**

Os artigos são submetidos, apenas eletronicamente, na página da Revista Caatinga. Podem ser ENVIADOS em Português, Inglês ou Espanhol. Porém, após a aprovação do manuscrito pelo Comitê Editorial, o autor será contactado para traduzir o artigo para a língua inglesa. Caso o trabalho seja submetido em inglês, após a aprovação desse pelo comitê editorial, o autor será comunicado para que realize a revisão do idioma inglês. A publicação será exclusivamente em Inglês. Fica a critério do autor a escolha da empresa ou pessoa física que irá realizar a tradução do manuscrito. Porém, é obrigatória a realização da REVISÃO do idioma inglês por umas das empresas indicadas pela Revista Caatinga. Abaixo seguem as indicações:

<http://www.proof-reading-service.com>  
<http://www.academic-editing-services.com/>  
<http://www.publicase.com.br/formulario.asp>  
<http://www.editage.com.br/manuscriptediting/index.html>  
<http://www.journalexerts.com>  
<http://www.webshop.elsevier.com/languageservices>  
<http://wsr-ops.com>  
<http://www.journaleditorsusa.com>  
<http://www.queensenglishediting.com/>  
<http://www.canalpage.com>  
<http://www.stta.com.br/servicos.php>  
<http://americanmanuscripteditors.com/>

### **PREPARO DO MANUSCRITO**

- Digitação: o texto deve ser composto em programa Word (DOC) ou compatível e os gráficos em programas compatíveis com o Windows, como Excel, e formato de imagens: Figuras (GIF) e Fotos (JPEG). Deve ter no máximo 20 páginas, tamanho A4, digitado com espaçamento 1,5, fonte Times New Roman, estilo normal, tamanho 12 e parágrafo recuado por 1 cm. Todas as margens deverão ter 2,5 cm. Páginas e linhas devem ser numeradas; os números de páginas devem ser colocados na margem inferior, à direita e as linhas numeradas de forma contínua. Se forem necessárias outras orientações, entre em contato com o Comitê Editorial. As Notas Técnicas devem apresentar até 12 páginas, incluindo tabelas e figuras.



- **Tamanho:** o manuscrito não deverá ultrapassar 2,0 MB.

- **Organização:** o artigo científico deverá ser organizado em título, nome do(s) Autor (es), resumo, palavras-chave, título em inglês, abstract, keywords, introdução, material e métodos, resultados e discussão, conclusão, agradecimentos (opcional), e referências.

**Título:** deve ser escrito em maiúsculo, negrito, centralizado na página, no máximo com 15 palavras, não deve ter subtítulo e abreviações. O nome científico deve ser indicado no título apenas se a espécie for desconhecida. Os títulos das demais seções da estrutura (resumo, abstract, introdução, material e métodos, resultados e discussão, conclusão, agradecimentos e referências) deverão ser escritos em letra maiúscula, negrito e justificado à esquerda.

**Autores(es):** nomes completos, sem abreviaturas, em letra maiúscula, um após o outro, separados por vírgula e centralizados. Essas informações deverão constar apenas na versão final do artigo. Na primeira versão do artigo submetido, os nomes dos autores e a nota de rodapé com os endereços deverão ser omitidos.

Para a inclusão do(s) nome(s) do(s) autor(es) e do(s) endereço(s) na versão final do artigo deve-se, como nota de rodapé na primeira página, indicar, para cada autor, afiliação completa (Unidade/Setor, Instituição, Cidade, Estado, País), endereço completo e e-mail de todos os autores. O autor correspondente deverá ser indicado por um “\*”.

No rodapé devem constar informações sobre a natureza do trabalho (se extraído de tese/dissertação) e referências às instituições colaboradoras. Exemplo:

---

\*Autor para correspondência

Recebido para publicação em xx/xx/xxxx ; aceito em xx/xx/xxxx.

Especificação (natureza) do trabalho (ex.: Pesquisa apoiada pela FAPESP e pelo CNPq; Trabalho de Mestrado,...)

2Unidade/Setor (por extenso), Instituição (por extenso e sem siglas), Cidade, Estado(sigla), País; E-mail (s).

OBS.: Caso dois ou mais autores tenham as mesmas especificações, não precisa repetir as informações, basta acrescentar, apenas, o e-mail ao final. Só serão aceitos, no máximo, 5(cinco) autores por artigo submetido: ressaltamos que, salvo algumas condições especiais, poderá ser incluído um sexto autor (não mais que isso) mediante apresentação de justificativas. A justificativa deverá ser anexada, no ato da submissão, em “Documentos Suplementares”, para que o Comitê Editorial proceda com a devida análise. Caso isso não ocorra, a submissão de artigo com número superior a 5 (cinco) autores não será aceita.

\*\* Não serão permitidas mudanças nos nomes de autores a posteriori.

\*\* Todos os autores deverão, OBRIGATORIAMENTE, cadastrarem-se no sistema.

Resumo e Abstract: no mínimo 100 e no máximo 250 palavras.

Palavras-chave e Keywords: a primeira letra maiúscula. Devem ter, no mínimo, três e, no máximo, cinco palavras, não constantes no Título/Title e separadas por ponto (consultar modelo de artigo).

Obs.: Em se tratando de artigo escrito em idioma estrangeiro (Inglês ou Espanhol), o título, resumo e palavras-chave deverão, também, constar em Português, mas com a sequência alterada, vindo primeiro no idioma estrangeiro.

**Introdução**: no máximo, **550 palavras**, contendo citações atuais que apresentem relação com o assunto abordado na pesquisa.

**Conclusão**: deve ser em texto corrido, sem tópicos.

**Agradecimentos**: logo após as conclusões, poderão vir os agradecimentos a pessoas ou instituições, indicando, de forma clara, as razões pelas quais os faz.

- **Tabelas**: sempre com orientação em “retrato”. Serão numeradas consecutivamente com algarismos arábicos na parte superior. **Não usar linhas verticais**. As linhas horizontais devem ser usadas para separar o título do cabeçalho e este do conteúdo, além de uma no final da tabela. Cada dado deve ocupar uma célula distinta. Não usar negrito ou letra maiúscula no cabeçalho. **Recomenda-se que as tabelas apresentem 8,2 cm de largura, não ultrapassando 17 cm.**

- **Figuras**: sempre com **orientação em “retrato”**. Gráficos, fotografias ou desenhos levarão a denominação geral de Figura sucedida de numeração arábica crescente e legenda na parte inferior. Para a preparação dos gráficos deve-se utilizar “softwares” compatíveis com “Microsoft Windows”. A resolução deve ter qualidade máxima com pelo menos 300 dpi. **As figuras devem apresentar 8,5 cm de largura, não ultrapassando 17 cm.** A fonte empregada deve ser a Times New Roman, corpo 10 e não usar negrito na identificação dos eixos. As linhas dos eixos devem apresentar uma espessura de 1,5 mm de cor preta. A Revista Caatinga reserva-se ao direito de não aceitar tabelas e/ou figuras com ORIENTAÇÃO na forma “paisagem” ou que apresentem mais de 17 cm de largura. **Tabelas e Figuras devem ser inseridas logo após a sua primeira citação.**

- **Equações**: devem ser digitadas usando o editor de equações do Word, com a fonte Times New Roman. As equações devem receber uma numeração arábica crescente. As equações devem apresentar o seguinte padrão de tamanho:

Inteiro = 12 pt

Subscrito/sobrescrito = 8 pt

Sub-subscrito/sobrescrito = 5 pt

Símbolo = 18 pt

Subsímbolo = 14 pt

Estas definições são encontradas no editor de equação no Word.

## REFERÊNCIAS

Devem ser digitadas em espaço 1,5 cm e separadas entre si pelo mesmo espaço (1,5 cm). Precisam ser apresentadas em ordem alfabética de autores; justificar (Ctrl + J). Este periódico utiliza a NBR 6023 de agosto/2002 da ABNT. **UM PERCENTUAL DE 60% DO TOTAL DAS REFERÊNCIAS DEVERÁ SER ORIUNDO DE PERIÓDICOS CIENTÍFICOS INDEXADOS COM DATA DE PUBLICAÇÃO INFERIOR A 10 ANOS.**

O título do periódico não deve ser abreviado e recomenda-se um total de 20 a 30 referências. **EVITE CITAR RESUMOS E TRABALHOS APRESENTADOS E PUBLICADOS EM CONGRESSOS E SIMILARES.**

**Citações de autores no texto:** devem ser observadas as normas da ABNT, NBR 10520 de agosto/2002.

Ex: Com 1(um) autor, usar Torres (2008) ou (TORRES, 2008); com 2 (dois) autores, usar Torres e Marcos Filho (2002) ou (TORRES; MARCOS FILHO, 2002); com 3 (três) autores, usar França, Del Grossi e Marques (2009) ou (FRANÇA; DEL GROSSI; MARQUES, 2009); com mais de três, usar Torres et al. (2002) ou (TORRES et al., 2002).

### **REGRAS DE CITAÇÕES DE AUTORES**

#### **\*\* Até 3 (três) autores**

Mencionam-se todos os nomes, na ordem em que aparecem na publicação, separados por ponto e vírgula.

Ex: TORRES, S. B.; PAIVA, E. P. PEDRO, A. R. Teste de deterioração controlada para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de jiló. Revista Caatinga, Mossoró, v. 0, n. 0, p. 00-00, 2010.

#### **\*\* Acima de 3 (três) autores**

Menciona-se apenas o primeiro nome, acrescentando-se a expressão et al.

Ex: BAKKE, I. A. et al. Water and sodium chloride effects on *Mimosa tenuiflora*(Willd.) poiret seed germination. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 19, n. 3, p. 261-267, 2006.

**\*\* Grau de parentesco**

HOLANDA NETO, J. P. **Método de enxertia em cajueiro-anão-precoce sob condições de campo em Mossoró-RN**. 1995. 26 f. Monografia (Graduação em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura de Mossoró, Mossoró, 1995.

COSTA SOBRINHO, João da Silva. Cultura do melão. **Cuiabá**: Prefeitura de Cuiabá, 2005.

**MODELOS DE REFERÊNCIAS**

**a) Artigos de Periódicos:** Elementos essenciais:

AUTOR. Título do artigo. **Título do periódico**, Local de publicação (cidade), n.º do volume, n.º do fascículo, páginas inicial-final, ano.

Ex: BAKKE, I. A. et al. Water and sodium chloride effects on *Mimosa tenuiflora*(Willd.) poiret seed germination. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 19, n. 3, p. 261-267, 2006.

**b) Livros ou Folhetos, no todo:** Devem ser referenciados da seguinte forma:

AUTOR. **Título**: subtítulo. Edição. Local (cidade) de publicação: Editora, data. Número de páginas ou volumes.(nome e número da série)

Ex: RESENDE, M. et al. **Pedologia**: base para distinção de ambientes. 2. ed. Viçosa, MG: NEPUT, 1997. 367 p.

OLIVEIRA, A. I.; LEONARDOS, O. H. **Geologia do Brasil**. 3. ed. Mossoró: ESAM, 1978. 813 p. (Coleção mossoroense, 72).

**c) Livros ou Folhetos, em parte (Capítulo de Livro):**

AUTOR DO CAPÍTULO. Título do capítulo. In: AUTOR DO LIVRO. **Título**: subtítulo do livro. Número de edição. Local de publicação (cidade): Editora, data. Indicação de volume, capítulo ou páginas inicial-final da parte.

Ex: BALMER, E.; PEREIRA, O. A. P. Doenças do milho. In: PATERNIANI, E.; VIEGAS, G. P. (Ed.). **Melhoramento e produção do milho**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. v. 2, cap. 14, p. 595-634.

**d) Dissertações e Teses:** (somente serão permitidas citações recentes, PUBLICADAS NOS ÚLTIMOS TRÊS ANOS QUE ANTECEDEM A REDAÇÃO DO ARTIGO). Referenciam-se da seguinte maneira:

AUTOR. **Título:** subtítulo. Ano de apresentação. Número de folhas ou volumes. Categoria (grau e área de concentração) - Instituição, local.

Ex: OLIVEIRA, F. N. **Avaliação do potencial fisiológico de sementes de girassol** (*Helianthus annuus* L.). 2011. 81 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia: Área de Concentração em Tecnologia de Sementes) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2011.

**e) Artigos de Anais ou Resumos:** (DEVEM SER EVITADOS)

NOME DO CONGRESSO, n.º., ano, local de realização (cidade). Título... subtítulo. Local de publicação (cidade): Editora, data de publicação. Número de páginas ou volumes.

Ex: BALLONI, A. E.; KAGEYAMA, P. Y.; CORRADINI, I. Efeito do tamanho da semente de *Eucalyptus grandis* sobre o vigor das mudas no viveiro e no campo. In: CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO, 3., 1978, Manaus. **Anais...** Manaus: UFAM, 1978. p. 41-43.

**f) Literatura não publicada, mimeografada, datilografada etc.:**

Ex: GURGEL, J. J. S. **Relatório anual de pesca e piscicultura do DNOCS**. Fortaleza: DNOCS, 1989. 27 p. Datilografado.

**f) Literatura cuja autoria é uma ou mais pessoas jurídicas:**

Ex: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 6023: informação e documentação – referências – elaboração. Rio de Janeiro, 2002. 24 p.

**g) Literatura sem autoria expressa:**

Ex: NOVAS Técnicas – Revestimento de sementes facilita o plantio. *Globo Rural*, São Paulo, v. 9, n. 107, p. 7-9, jun. 1994.

**h) Documento cartográfico:**

Ex: INSTITUTO GEOGRÁFICO E CARTOGRÁFICO (São Paulo, SP). Regiões de governo do Estado de São Paulo. São Paulo, 1994. 1 atlas. Escala 1:2.000.

**J) Em meio eletrônico (CD e Internet):** Os documentos /informações de acesso **exclusivo por computador (online)** compõem-se dos seguintes elementos essenciais para sua referência:

AUTOR. Denominação ou título e subtítulo (se houver) do serviço ou produto, indicação de responsabilidade, endereço eletrônico entre os sinais <> precedido da expressão – Disponível em: – e a data de acesso precedida da expressão – Acesso em:.

Ex: BRASIL. Ministério da Agricultura e do abastecimento. **SNPC – Lista de Cultivares protegidas**. Disponível em:<<http://agricultura.gov.br/scpn/list/200.htm>>. Acesso em: 08 set. 2008.

GUNCHO, M. R. A educação à distância e a biblioteca universitária. In: SEMINÁRIO DE BIBLIOTECAS UNIVERSITÁRIAS, 10., 1998, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: Tec Treina, 1998. 1 CD-ROM.