UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Veterinária

Dissertação

Atividade ovicida de *Ocimum basilicum* em nematódeos gastrintestinais de ovinos

Leonardo Mortagua de Castro

Pelotas, 2014

LEONARDO MORTAGUA DE CASTRO

***Atividade ovicida* de *Ocimum basilicum* em nematódeos gastrintestinais de ovinos**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área do conhecimento: Sanidade animal).

Orientador: Maria Elisabeth Aires Berne

Co-orientador: Isabel Martins Madrid

Pelotas, 2014

Dados de catalogação na fonte:
Maria Beatriz Vaghetti Vieira – CRB 10/1032

Biblioteca de Ciência & Tecnologia - UFPel

C355a **Castro, Leonardo Mortagua de**

Atividade ovicida de *Ocimum basilicum* em nematódeos gastrintestinais de ovinos / Leonardo Mortagua de Castro. – 47f. ; il. – Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Veterinária. Universidade Federal de Pelotas. Faculdade de Veterinária. Pelotas, 2014. – Orientador Maria Elisabeth Aires Berne ; co-orientador Isabel Martins Madrid.

Banca examinadora:

Prof. Dr. Maria Elisabeth Aires Berne (Orientadora)

Prof. Dr. Tiago Gallina Corrêa (UNIPAMPA)

Prof. Dra. Marlete Brum Cleff (UFPel)

Prof. Dra. Daniela Isabel Brayer Pereira (UFPel)

Prof. Dra. Gertrud Muller Antunes (suplente) (UFPel)

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus, por tudo que me proporcionou na minha vida, pela minha família, meus amigos e todas as oportunidades recebidas.

A minha mãe, Mariza Mortagua de Castro, por todo seu empenho na minha criação e apoio em todos os momentos da minha caminhada desde o começo até aqui.

A Professora Drª Maria Elisabeth Aires Berne por sua dedicação e orientação durante estes dois anos e pela grande amizade.

A meus amigos pelo apoio e conselhos que me ajudaram a chegar até aqui.

A minha namora Cristina Sangoi Haas pelo apoio, companheirismo, parceria e conselhos tão importantes.

Aos colegas e amigos do laboratório de Parasitologia (Luciana, Natália, Lucas, Gabriela, Micaele, Rita) pela ajuda, aprendizado e pelas risadas proporcionadas.

A minha co-orientadora Isabel Martins Madrid pelos ensinamentos e ajuda.

Aos amigos Antonieta e Eniltom pela ajuda no laboratório e pela amizade.

Ao Professor Rogério Freitag responsável pelo laboratório de pesquisas em produtos naturais pela grande ajuda.

Aos meus familiares, tios e primos, por toda a amizade e apoio durante toda minha vida.

A todos que contribuíram de alguma forma para que eu chegasse até aqui meu MUITO OBRIGADO!

Resumo

CASTRO, Leonardo Mortagua de. **Atividade ovicida de *Ocimum basilicum* em nematódeos gastrintestinais de ovinos.** 2014. 40f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Veterinária. Universidade Federal de Pelotas.

Os nematódeos gastrintestinais são os grandes limitantes da ovinocultura, sendo seu controle realizado através de anti-helmínticos comerciais. Porém devido ao uso frequente e muitas vezes de maneira errônea destes fármacos, vem ocorrendo a resistência anti-helmíntica dos parasitos. Medidas alternativas de controle surgem como uma proposta dentre as quais estão os fitoterápicos. Nesse sentido este estudo teve como objetivo avaliar ação *in vitro* de *Ocimum basilicum* em nematódeos gastrintestinais de ovinos e sua composição química. Para os estudos *in vitro* foram utilizadas fezes de ovinos naturalmente infectados, testados frente ao óleo essencial *de O. basilicum* nas concentrações de 32 a 0,25 mg/mL, extrato hidroalcoólico nas concentrações 40 a 1,25 mg/mL, sendo utilizados como controle positivo tiabendazol (0,025 mg/mL) e como controle negativo água destilada. A análise química do óleo essencial foi realizada através de cromatografia gasosa sendo determinado como constituintes majoritários o chavicol com 34,68% e o linalool com 27,68%. O óleo essencial apresentou 100% de eficácia em todas as concentrações testadas, exceto na menor que mostrou 99,05% de inibição da eclodibilidade. O extrato hidroalcoólico nas concentrações 40 e 20 mg/mL também obteve 100%, com queda gradual, chegando aos 9,76% na concentração 1,25 mg/mL. Para os controles positivo e negativo esses valores foram de 98,57% e 8,5%, respectivamente. A partir dos resultados obtidos pode-se afirmar que nas condições testadas, *O. basilicum* foi eficaz contra ovos de nematódeos gastrintestinais, sugerindo maior potencial antihelmíntico para o óleo essencial, porém necessitando continuidade dos estudos para testar os principais constituinte *in vitro* e *in vivo*.

Palavras-chave: Helmíntoses. Ovinos. Fitoterápicos. Manjericão.

Abstract

CASTRO, Leonardo Mortagua de. **Atividade ovicida de *Ocimum basilicum* em nematódeos gastrintestinais de ovinos.** 2014.40f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Veterinária. Universidade Federal de Pelotas.

Gastrointestinal nematodes are the major limiting factors for the sheep farming, and its control was accomplished through commercial anthelmintics. However due to its intensive and often erroneously occurred the installation of anthelmintic resistance of these parasites. Alternative measures of control emerged as a proposal among which are phytotherapic. In this sense this study was to evaluate *in vitro* action of *Ocimum basilicum* in gastrointestinal nematodes of sheep. For in vitro studies, feces of naturally infected sheep were tested against to essential oil of *O. basilicum* in concentrations of 32 to 0.25 mg/mL and hydroalcoholic extract in concentrations of 40 to 1.25 mg/mL. Each test was accompanied by positive control containing thiabendazole (0.025 mg/mL) and distilled water as negative control. Chemical analysis of the essential oil was performed by gas chromatography and determined as the major constituents chavicol (estragole) with 34.68% and 27.68% with linalool. The essential oil showed 100% efficiency in all their concentration except in the lowest which showed 99.05% inhibition of hatchability. The hydroalcoholic extract in their highest concentrations also obtained 100% inhibition of hatchability, with a gradual decline, reaching 9.76% at the concentration 1.25 mg/mL. To the positive and negative control these percentage were 98.57% and 8.5% respectively. From the results obtained it can be affirmed that *O. basilicum* was effective against gastrointestinal nematode eggs under the conditions tested, however requiring continuing studies to test the main constituent *in vitro* and *in vivo*.

Keywords: Parasitosis. Sheep. Phytotherapic. Basil.

Lista de Figuras

Figura 1: *Ocimum basilicum* 16

Lista de Tabelas

Tabela 1: Percentual médio da atividade ovicida do óleo essencial de Ocimum basilicum sobre nematódeos gastrintestinais 24
Tabela 2: Percentual médio da atividade ovicida do extrato hidroalcoólico de *Ocimum basilium* 24

Sumário

1 INTRODUÇÃO 9
REVISÃO LITERATURA 10
1.1-Nematódeos gastrintestinais de ovinos.....10
1.2 Métodos de Controle 11
1.2.1- Seleção de raças resistentes: 11
1.2.2 - Seleção de animais resistentes:.....12
1.2.3 - Rotação de pastagens: 12
1.2.4- Pastejo alternado com outras espécies:.....13
1.2.5- Método Famacha: 13
1.2.6- Método dosificação x opg:.....13
1.2.7- Controle biológico:.....13
1.3 Extratos vegetais.....14
2 OBJETIVOS 17
3 ARTIGO.....18
4 CONCLUSÃO GERAL.....30
5 REFERÊNCIAS.....35
6 APÊNDICE 43

1 INTRODUÇÃO

A ovinocultura é umas das principais atividades pecuárias brasileiras e o Rio Grande do Sul é onde se encontra o maior rebanho ovino lanado do país, com 3,97 milhões de animais (IBGE, 2010). Porém este já foi muito maior, atingindo na década de 1980 em torno de 13 milhões de cabeças (MAPA, 2013). Essa redução da população ovina se deve a inúmeras causas, entre as quais se destacam a desvalorização da lã, devido ao crescimento da utilização de materiais sintéticos nas indústrias, baixo valor comercial da carne, já que esta anteriormente era visto como produto secundário à lã, e gastos com doenças, principalmente as nematodioses gastrintestinais que acometem esses pequenos ruminantes(PINHEIRO, 1979, MOLENTO *et al., 2004)*.

Nos últimos anos surgiram novas perspectivas para a ovinocultura, devido à grande valorização e demanda da carne ovina, que passou a ter um mercado mais exigente, principalmente nos grandes centros consumidores, sendo o consumo de carne ovina é de 0,7 kg/ano por brasileiro, tornando esta a quinta carne mais consumida no país (MAPA, 2013). Essa valorização juntamente com a estabilização no preço da lã, demonstra que a ovinocultura pode ser uma excelente fonte de investimento.

Para que essa atividade possa desenvolver todo seu potencial produtivo e econômico é necessário diminuir os gastos com a produção e assim obter melhores resultados econômicos. Entretanto, para que isto ocorra é necessário resolver o principal entrave, que é ter um controle sustentável e eficiente dos nematódeos gastrintestinais. O método de controle tradicional baseado exclusivamente no uso de anti-helmínticos comerciais tem se mostrado ineficiente, devido à ampla resistência desses parasitos aos fármacos disponíveis (MELO *et al*., 2009). Isto revela uma necessidade urgente de pesquisas nesta área, para disponibilizar novas alternativas para contornar este problema.

Com essa visão, os extratos vegetais surgem como uma aposta de controle das parasitoses gastrintestinais. Dentre os quais tem se destacado o *Ocimum*

basilicum, popular manjericão, planta conhecida mundialmente e amplamente utilizada como tempero na culinária, vem sendo estudada contra diversos tipos de micro-organismos.

REVISÃO LITERATURA

1.1 Nematódeos gastrintestinais de ovinos

Os ovinos são os animais domésticos mais afetados por infecções gastrintestinais parasitárias, sendo os cordeiros a faixa etária mais acometida (PINHEIRO, 1979). Ocasionam perdas que não estão somente ligadas a morte de animais, mas principalmente a perdas que ocasionam durante todo o seu parasitismo, como: diminuição do desenvolvimento corporal; perda de peso; baixa produção de carne e aumento dos custos de produção, como os gastos com produtos para o controle destas infecções (FURTADO, 2006).

Os parasitos gastrintestinais de ovinos de maior destaque pertencem a família *Trichostrongylidae*, que compreende diversas espécies, entre as quais se destaca *Haemonchus contortus e Trichostrongylus colubriformes* (AMARANTE *et al*., 2004; ROCHA *et al.*, 2008). *H. contortus*, parasito do abomaso, destaca-se por ser considerado o mais patogênico, e prevalente, com alto potencial biótico e intensidade de infecção. Ocorre muitas vezes em infecções mistas com outros parasitos, entretanto, é encontrado em predominância nas fezes e nas pastagens contaminadas (KRECEK & WALLER, 2006). Seu parasitismo ocasiona uma perda significativa da rentabilidade da produção, pois leva a depressão, diminuição do apetite, disfunção do aparelho gastrointestinal, alterações do metabolismo, mudanças no balanço hídrico, gerando alterações corpóreas e de qualidade da carcaça (FOX, 1993). As infecções são facilmente diagnosticadas devido a seu principal sinal clínico, a anemia, ocasionada pela ação hematófaga do parasito, que quando adulto pode sugar o hospedeiro por mais de 12 minutos e após sua saída ocasiona uma hemorragia local, que pode persistir por mais sete minutos, estimando que um parasito pode levar a perda de 0.05 mL de sangue. (LE JAMBRE, 1995).

Em segundo lugar quanto à patogenicidade e prevalência encontra-se o *Trichostrongylus colubriformes* (AMARANTE, 2004), parasito do intestino delgado encontrado em quase todos os rebanhos ovinos. Caracteriza-se por provocar lesões

na mucosa intestinal, causando exsudação, perdas de proteínas séricas para a luz intestinal, cursando com anorexia e diarréia (FURTADO, 2006).

Diante dos problemas e prejuízos ocasionados pelas parasitoses gastrintestinais em ovinos é necessário maior atenção a esse limitante da produção, através da adequação dos métodos de controle para que a ovinocultura possa atingir todo o seu potencial como atividade pecuária.

1.2 Métodos de Controle

A maior dificuldade encontrada por produtores de ovinos atualmente é o controle da parasitose gastrointestinal (MELO, 2000), que sempre foi realizado com o uso de anti-helmínticos, com o objetivo de reduzir os níveis de infecção dos animais e também a descontaminação das pastagens (WALLER, 2006). Porém, este controle vem sendo utilizado de forma errônea, sem considerar às características epidemiológicas dos organismos, tornar-se ineficaz, oneroso e prejudicial ao rebanho, além de contribuir para a resistência anti-helmíntica e risco de resíduos em leite, carne e ambiente (VIEIRA *et al.*, 2009).

A intensa utilização dos anti-helmínticos por longos períodos, esbarra na resistência desenvolvida pelos parasitos as moléculas químicas existentes, sendo que a maioria destas moléculas foi desenvolvida na década de 60, quando se tornaram a forma principal de controle à verminose ovina (AMARANTE & SALES, 2007). Sendo que o primeiro relato de resistência de *Haemonchus contortus* sobre os benzimidazóis. foi publicado em 1967, por Santos e Gonçalves.

Para minimizar o problema de resistência e tornar o controle das parasitoses gastrintestinais mais efetivo, bem como prolongar a vida útil dos anti-helmínticos, vários estudos vem sendo conduzidos, utilizando métodos alternativos de controle do parasito no hospedeiro e também destes em sua fase de vida livre no ambiente.

1.2.1- Seleção de raças resistentes:

Dentre as raças ovinas criadas no Brasil existem diferenças entre seu grau de rusticidade, o que também é observado em relação à resistência destes animais ao parasitismo. Ovinos da raça crioula, raça existente há séculos no Rio Grande do Sul, são animais de grande rusticidade e segundo estudos realizados por Bricarello *et al.*

(2002) apresentam superioridade quando se trata de resistência às infecções por *Haemonchus contortus* em relação a ovinos da raça Corriedale, que por sua vez é umas das raças de maior rebanho neste Estado. A raça Romney Marsh também é atribuída à característica de maior resistência as helmintoses, isto se deve ao local de onde a raça se originou, região de pântanos, sendo assim esta se adaptou muito bem a campos baixos e alagados, onde outras raças muitas vezes não conseguem se desenvolver (JARDIM, 1987).

1.2.2 - Seleção de animais resistentes:

Dentro de um mesmo rebanho pode ocorrer diferentes graus de infecções por parasitos gastrintestinais, onde a maioria dos hospedeiros alberga poucos parasitos e a minoria dos animais do rebanho esta com a grande carga parasitaria. Isso se deve a resposta imunológica individual dos animais, que os tornam mais resistentes e capazes de desencadear reações que suprimem o estabelecimento dos parasitos e também eliminam os já estabelecidos (AMARANTE *et al.,* 1998).

1.2.3 - Rotação de pastagens:

Este processo de rotação de pastagens pode ser tanto benéfico, quanto prejudicial ao parasitismo dos ovinos. A rotação tem como objetivo retirar os ovinos de certa área para que quebre o ciclo do parasito, porém estes podem resistir por vários dias, até mesmo durante meses em vida livre no ambiente. Segundo SOUTHCOTT *et al.* (1976) e DONALD *et al.* (1978), larvas de nematóides gastrintestinais podem sobreviver por seis meses ou mais no ambiente, por isso para se obter o resultado esperado, a rotação deve ser mais longa do que a sobrevivência do parasito no ambiente. Essas condições são variáveis conforme a região, já que a sobrevivência de ovos e larvas esta diretamente relacionada a temperatura e umidade. Segundo Gonçalves e Vieira (1963), em estudo realizado em Porto Alegre/RS durante o verão, foi verificado que houve a descontaminação das pastagens após dois meses de descanso, o que foi atribuído as altas temperaturas, baixos índices de precipitação e baixa umidade do ar.

1.2.4- Pastejo alternado com outras espécies:

Segundo Amarante e Barbosa (1995) para que esta técnica apresente resultados é necessário que os animais pastejem em piquetes separados por longos períodos, para depois trocar os piquetes entre as diferentes espécies. Uma opção para este tipo de controle é a alternância de bovinos adultos, mais resistentes, com ovinos jovens, mais sensíveis às infecções por nematódeos gastrintestinais.

1.2.5- Método Famacha:

Este método foi estabelecido com o objetivo de selecionar os animais entre resistentes, resilientes e sensíveis aos nematódeos gastrintestinais, para que fosse otimizado o uso dos anti-helmínticos. Van Wyk *et al.* (1997) realizou a associação da coloração da mucosa ocular dos ovinos ao seu grau de volume globular e dividiu em uma escala de cinco graus de anemia conforme a coloração da mucosa ocular, revelando quais animais deveriam receber tratamento. Segundo Molento *et al.* (2004) foi possível diminuir em 75,6% as intervenções medicamentosas em um rebanho controlado por 180 dias com a utilização deste método. Entretanto, este método aplica-se a infecções do rebanho com *H. contortus*, nematódeo hematófago, visto que se baseia no grau de anemia dos animais.

1.2.6- Método dosificação x opg:

É uma forma laboratorial de acompanhamento do rebanho ovino. Através da técnica de Gordon & Whitlock (1939) é realizada a contagem do número de ovos de nematódeos gastrintestinais por grama de fezes. A partir do resultado, ou seja, do número de ovos presentes nas fezes são identificados os animais que necessitam ser tratados, com isso pode se diminuir o número de animais tratados, menores custos com medicamentos e também otimizar o manejo (ECHEVARRIA, 1996).

1.2.7- Controle biológico:

As pastagens contaminadas são importantes veículos de transmissão das parasitoses para os animais, assim sua desinfecção, com a redução da carga parasitária infectante é um dos objetivos para controle de verminoses (ARAÚJO *et al.*, 2004). O controle biológico atua com a utilização de antagonista no ambiente para diminuir a populações dos parasitos, mantendo-as em populações subclínicas

ou em níveis não prejudiciais, atuando sobre os hospedeiros intermediários, paratênicos, vetores e estágios de vida livre dos parasitos, reduzindo as fontes de infecção para os animais hospedeiros (GRONVOLD *et al.*, 1996). Entre os antagonistas mais conhecidos utilizados contra nematódeos gastrintestinais estão os fungos (ARAÚJO *et al.* 2004) e bactérias (SINOTT *et al.* 2012).

1.3 Extratos vegetais

A sociedade tem priorizado cada vez mais o meio ambiente, e com isso aumenta a procura por moléculas capazes de combater infecções e que não possuam efeitos negativos para o ambiente (CASTRO, 1989). Aliado a preocupação com o meio ambiente, também está o receio da população em consumir produtos de origem animal com resíduos de produtos químicos. A partir destes motivos e da necessidade de alternativas de controle das parasitoses, novos métodos de controle ganham força, destacando-se os fitoterápicos, que surgem como uma boa proposta para controle e assim, diminuir o uso de anti-helmínticos comerciais (OLIVEIRA *et al.,* 2009, CARVALHO *et al.,* 2012).

Desde a antiguidade as plantas são conhecidas como detentoras de atividade anti-helmíntica, porém para que estas possam vir a ser utilizadas com segurança é necessário que suas eficácias sejam cientificamente comprovadas (VIEIRA, 2003). Segundo a Organização Mundial de Saúde, 80% da população mundial utilizam plantas para tratamento de inúmeras doenças, como infecções microbianas, virais, inflamações e dores (ADIGÜZEL *et al.,* 2012).

No Brasil, segundo Furtado (2006), 106 espécies de plantas já foram citadas como capazes de possuir ação anti-helmíntica, porém destas menos de 17% comprovaram sua eficiência.

- Gênero *Ocimum*

O manjericão, nome popular do gênero *Ocimum,* pertence à família *Lamiaceae,* e apresenta-se como uma erva aromática, produtora de óleo essencial com aplicação medicinal. Além da importância econômica pela produção do óleo essencial, também é muito consumida *in natura* ou como matéria prima na indústria. Muito conhecida por seu uso na culinária, no tempero de alimentos, bebidas e com vasto uso na indústria de cosméticos e perfumaria (PEREIRA & MOREIRA, 2011).

Este gênero esta distribuído nas zonas tropicais e subtropicais da Ásia, África, América Central e América do Sul, compreendendo um total de 30 espécies de ervas e pequenos arbustos (PATON, 1992).

As características morfológicas das plantas como porte, formato de copa, tamanho e coloração de folhagem, podem dar origem à nomenclatura manjericão (SIMON, 1993). Dentro deste gênero, destacamos as seguintes espécies como produtoras de óleos essenciais, fármacos, perfumes e cosméticos: *Ocimum gratissimum* (manjericão-doce), *Ocimum basilicum* (manjericão branco), *Ocimum tenuiflorum*, *Ocimum selloi* Benth (elixir paregórico) (MATOS, 1998).

Muitas espécies deste gênero têm seu óleo essencial ultilizado para tratar dores de cabeça, diarréia, inflamações e dor (ADIGÜZEL *et al.,* 2012*,* FRANCA *et al.* 2008*)*. No controle de *Haemonchus contortus* já foram realizados estudos com óleos essenciais deste gênero, como o de *Ocimum gratissimum* (PESSOA *et al.,* 2002*),*

- Ocimum basilicum

Também é conhecido popularmente como manjericão branco ou alfavaca sendo muito cultivado em todo o Brasil. É um subarbusto aromático, anual e muito ramificado que mede entre 30 e 60 centímetros (figura 1). O chá de *O. basilicum* é muito utilizado como tratamento de cólica em crianças recém nascidas, problemas respiratórios e estomacais. Além de sua ação terapêutica, também apresenta utilização na culinária, tendo sua venda realizada em feiras e supermercados (PEREIRA & MOREIRA, 2011).

Para a produção do óleo essencial, as folhas devem ser colhidas antes do florescimento, pois com a floração o teor de óleo diminui. O óleo essencial tem como constituintes principais o timol, metil-chavicol, linalool, eugenol, cineol e pireno (MATTOS, 2000).

Esta espécie tem sido usada tradicionalmente para tratamento de ansiedade, diabetes, doenças cardio-vasculares, dor de cabeça, anticonvulsivante, antiinflamatória e doenças degenerativas (BORA *et al.,* 2011).

Estudos com extratos e óleos essenciais de *O. basilicum* já foram realizados em várias partes do mundo, contra fungos (DAMBOLENA *et al.,* 2010), protozoários (ALMEIDA *et al.,* 2007), insetos (GOVINDARAJAN *et al.,* 2013).

Os principais constituintes isolados do óleo essencial já apresentam resultados promissores, o Chavicol obteve resultados promissores quando testado

contra *Plasmodium falciparum*, protozoário causador da Malária (MOTA *et al*., 2012), enquanto o Linalool apresentou eficiência contra trofozoítos de *Giardia lamblia* (ALMEIDA *et al*., 2007).

Figura 1: *Ocimum basilicum*

2 OBJETIVOS

- Objetivos gerais:

Estudar a ação de *Ocimum basilicum* sobre ovos de nematódeos gastrintestinais de ovinos.

- Objetivos específicos:

- Averiguar a ação ovicida *in vitro* do óleo essencial de *O. basilicum*;

- Avaliar a ação ovicida *in vitro* do extrato hidroalcoólico de *O. basilicum;*

- Determinar as concentrações dos principais constituintes do óleo essencial de *O. basilicum*.

3 ARTIGO

Atividade ovicida do óleo essencial e extrato hidroalcoólico de *Ocimum basilicum* em nematódeos gastrintestinais de ovinos

Leonardo Mortagua de Castro, Natália Berne Pinto; Luciana Laitano Dias de Castro, Isabel Martins Madrid, Rogério Antonio Freitag Maria Elisabeth Aires Berne

Foi submetido à revista Arquivos do Instituto Biológico

ATIVIDADE OVICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL E EXTRATO HIDROACOÓLICO DE *Ocimum basilicum* EM NEMATÓDEOS GASTRINTESTINAIS DE OVINOS

Leonardo Mortagua de Castro, Luciana Laitano Dias de Castro, Natália Berne Pinto,

Isabel Martins Madrid, Rogério Antonio Freitag, Maria Elisabeth Aires Berne

RESUMO

Os nematódeos gastrintestinais constituem grave problema a ovinocultura, devido à resistência anti-helmíntica a maioria dos compostos disponíveis, necessitando buscar alternativas de controle destes parasitos**.** O objetivo deste estudo foi avaliar a atividade ovicida *in vitro* do óleo essencial e do extrato hidroalcóolico de *Ocimum basilicum* em nematódeos de ovinos e determinar os principais constituintes químicos do óleo essencial. Para os estudos *in vitro* foram utilizadas fezes de ovinos naturalmente infectados, testadas frente ao óleo essencial de *O. basilicum* nas concentrações de 32 a 0,25 mg/mL e ao extrato hidroalcoólico nas concentrações 40 a 1,25 mg/mL, como controle positivo tiabendazol (0,025 mg/mL) e negativo, água destilada. A análise química do óleo essencial foi realizada por cromatografia gasosa, sendo determinado como constituintes majoritários chavicol (34,68%) e linalool (27,68%). O óleo essencial apresentou ação acima de 99% em todas as concentrações. O extrato hidroalcoólico em concentrações entre 40 e 10 mg\mL obteve 100% de inibição, chegando aos 9,76% na concentração 1,25 mg/mL. Os controles positivo e negativo obtiveram 98,57% e 8,5%, respectivamente. *O. basilicum* foi eficaz contra ovos de nematódeos gastrintestinais, sugerindo maior potencial antihelmíntico para o óleo essencial, necessitando estudos com os principais constituintes, em avaliações *in vitro* e *in* vivo.

Palavras-chaves: Manjericão; *Haemonchus*; Extratos .

OVICIDAL ACTIVITY OF ESSENTIAL OIL AND HYDROALCOHOLIc EXTRACT OF *Ocimum basilicum* ON GASTROINTESTINAL NEMATODES OF SHEEP

ABSTRACT

Gastrointestinal nematodes are a major problem sheep industry due to anthelmintic resistance compounds are available, needing to seek alternative control these parasites. The aim of this study was to evaluate the *in vitro* ovicidal activity of the essential oil and hydroalcoholic extract of *Ocimum basilicum* nematodes in sheep and determine the chemical constituents of the essential oil. For the i*n vitro* studies, naturally infected sheep feces were used, tested against the essential oil of *O. basilicum* concentrations from 32 to 0.25 mg/mL and the hydroalcoholic extract at concentrations from 40 to 1.25 mg/mL, as a positive control thiabendazole (0.025 mg/mL) and negative distilled water. Chemical analysis of the essential oil was performed by gas chromatography, being determined as major constituents chavicol

(34.68%), and linalool (27.68%). The essential showed activity above 99% at all concentrations.The hydroalcoholic extract at concentrations between 40 and 10 mg\mL had 100% inhibition, reaching 9.76% at the concentration 1.25 mg/mL . For positive and negative controls, these values were 98.57% and 8.5%, respectively. *O. basilicum* was effective against eggs of gastrointestinal nematodes, suggesting greater potential anthelmintic for the essential oil requiring studies with the main constituents, to evaluate *in vitro* and *in vivo*.
Keywords: Basil; Haemonchus; Phytotherapic.

INTRODUÇÃO

A ovinocultura vem se fortalecendo nos últimos anos, com a valorização da carne e também da lã e com isso firma-se como uma boa área de investimento dentro da pecuária. Entretanto, as nematodioses gastrintestinais têm acarretado prejuízos que muitas vezes inviabilizam a produção desses pequenos ruminantes (ECHEVARRIA et al., 1996; GITHIGIA et al., 2001).

O controle dessas parasitoses em ovinos vem sendo realizada há muitos anos, exclusivamente através do uso de anti-helmínticos comerciais, mostrando resultados ineficientes, devido ao uso intensivo e muitas vezes errôneo, resultando resistência dos nematódeos a estes fármacos (VIEIRA et al., 2009). Aliado a isto, há uma exigência cada vez maior pelos consumidores de produtos de origem cárnea e láctea, destes alimentos sem a presença de resíduos químicos. Em vista disto, a busca de novas alternativas vem sendo pesquisada em diferentes regiões, destacando-se a utilização de fitoterápicos, com resultados promissores em nematódeos gastrintestinais de ovinos (GITHIORI et al., 2002; ASSIS et al., 2003; OLIVEIRA et al., 2009; CARVALHO et al., 2012).

Ocimum basilicum (manjericão), é uma planta da família Lamiaceae, cultivada em quase todo o Brasil, sendo muito utilizada como condimento (BOWN, 1995). Estudos com óleos essências de plantas vêm sendo realizados em diferentes partes do mundo, avaliando suas ações sobre protozoários (ALMEIDA et al., 2007; MOTA et al., 2012), fungos (DAMBOLENA et al., 2010), insetos (GHOSH et al., 2012) e nematódeos (CARVALHO et al., 2012).

Considerando a iminente necessidade de buscar medidas alternativas de controle dos nematódeos gastrintestinais, e sendo os extratos vegetais promissores a esta finalidade, foi proposto o presente estudo, que tem como objetivo verificar a ação *in vitro* do óleo essencial e do extrato hidroalcóolico de *Ocimum basilicum* sobre ovos de nematódeos gastrintestinais de ovinos, bem como determinar as concentrações dos principais componentes do óleo essencial.

MATERIAIS E MÉTODOS

Obtenção dos ovos de nematódeos gastrintestinais de ovinos

Amostras de fezes foram colhidas diretamente da ampola retal de dois cordeiros naturalmente parasitados com nematódeos gastrintestinais. O material coletado foi encaminhado ao laboratório de parasitologia e processado pela técnica de Gordon; Whitlock (1939), para quantificação dos ovos e Roberts; O'Sullivan (1950) para identificação dos gêneros de nematódeos presentes. Para recuperação dos ovos, amostras positivas que apresentavam em torno de 20.000 ovos por grama de fezes, foram processadas de acordo com a técnica descrita por Hubert; Kerboeuf (1992), com modificações, para recuperação de ovos, em no máximo duas horas após a coleta. As fezes dos animais positivos foram maceradas e acrescentado água morna em torno de 40°C, seguindo-se a passagem das fezes em quatro tamises com os seguintes diâmetros de abertura malhas: 1 milímetro, 105 micrometros, 55 micrometros e 25 micrometros Os ovos retidos no último tamis foram recolhidos através de lavagem com água destilada. Este material obtido foi transferido para tubos de 50mL e centrifugado a 3000rpm, em temperatura ambiente por cinco minutos. O sobrenadante foi descartado e o sedimento ressuspenso com solução salina saturada e novamente centrifugado por cinco minutos. Após a centrifugação o sobrenadante foi novamente passado em tamis de 25 micrometros, seguindo-se a quantificação dos ovos.

Obtenção do óleo essencial

O *Ocimum basilicum* (manjericão) utilizado no teste foi adquirido de distribuidor comercial (Luar Sul®) com certificação de qualidade e origem. Para obtenção do óleo essencial, as folhas secas foram submetidas à extração com arraste de vapor em aparelho Clevenger, durante 4h. Após, o óleo obtido foi seco com sulfato de sódio anidro P.A, armazenado em frasco âmbar e mantido a -18ºC até a utilização.

Obtenção do extrato hidroalcólico

Inicialmente foi preparada a tintura de *Ocimum basilicum*, para isso, foram pesados 100 gramas da planta. O álcool 70% foi preparado utilizando alcoômetro, após foi adicionado de água destilada estéril. Colocamos a solução alcoólica juntamente com o manjericão em erlenmeyer autoclavado, e este foi acondicionado ao abrigo da luz envolto em papel alumínio, sendo a mistura agitada diariamente, por sete dias. Após foi realizada a filtragem, onde foram restituídos 760 ml da tintura e acrescentados 240 ml de álcool 70% para finalizar a tintura.

Para obtenção do extrato hidroalcóolico, foi utilizado um evaporador rotativo com pressão negativa de 600 mmHg, a uma temperatura de 45°C com velocidade suficiente para homogeneizar e aquecer o conteúdo de maneira uniforme, o procedimento durou em torno de 2 horas e 30 minutos, resultando na evaporação da porção alcoólica da tintura.

Análise química

Para análise química, o óleo essencial de *O. basilicum* foi submetido à análise por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa, em um equipamento GC/MS Schimadzu QP2010, equipado com injetor split/splitless com coluna capilar Rtx-5MS RESTEK (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm), nas seguintes condições cromatográficas: gás carreador Hélio, fragmentos obtidos por impacto de elétrons na energia de 70 eV, vazão de 1,2 mL/min, split 1:10, volume injetado de amostra 1 µL. Temperatura programada do forno: a temperatura inicial foi de 40ºC, com rampa de aquecimento em 5°C/min até 280°C ficando

estável nessa temperatura por 10 minutos, com tempo total de 58 minutos, sendo a temperatura do injetor de 58°C e interface 200°C, os compostos foram analisados com base na biblioteca NIST08 do GC/MS. O óleo foi diluído em hexano (grau analítico, ultra puro).

Teste da ação ovicida

A avaliação ovicida do óleo essencial e do extrato hidroalcoólico foi realizada segundo a técnica de Coles et al. (1992), utilizando placas de cultivo de 24 orifícios com aproximadamente 150 ovos por orifício.O óleo essencial foi testado nas concentrações de 32 mg/mL até 0,25 mg/mL e o extrato hidroalcoólico entre 40 e 1,25mg/mL. Como controle positivo foi utilizado cloridrato de Tiabendazol na concentração de 0,025 mg/mL e como controle negativo água destilada. Todas as avaliações foram realizadas em quatro repetições, seguindo-se incubação em estufa B.O.D a 28°C com umidade relativa de 80% por 24 horas. A quantificação de ovos e larvas foi realizada em microscópio invertido (Zeiss, Alemanha). As médias da inibição da eclodibilidade para cada tratamento foi determinada conforme a equação descrita por Camurça-Vasconcelos *et al.* (2007): % de Inibição da Eclodibilidade =número de larvas / número de larvas mais número de ovos X 100.

Análise estatística

A análise estatística foi realizada através do software Statistix 9.0, através de ANOVA e comparação de médias pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

RESULTADOS

Os ovos presentes nas fezes dos ovinos foram identificados na coprocultura como 97% de *Haemonchus* e 3% de *Trichostrongylus.*

O óleo essencial de *O. basilicum* apresentou percentual de inibição da eclodibilidade de 100% nas concentrações de 32 à 0,5 mg/mL, sendo que somente na concentração 0,25 mg/mL ocorreu uma pequena queda de sua eficiência, ficando em 99,05%. Houve diferença

estatística ($p \leq 0,05$) do controle positivo e negativo e a concentração 0,25mg/ml com as demais concentrações avaliadas (tab.1).

Tabela 1 Percentual médio da atividade ovicida do óleo essencial de Ocimum basilicum sobre nematódeos gastrintestinais

	Concentrações (mg/mL)									
Tratamento	AH	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	Água
	B	A	A	A	A	A	A	A	B	C
	98,58	100	100	100	100	100	100	100	99,05	9,9

AH- tratamento com tiabendazol a 0,025 mg/mL

Letras maiúsculas distintas, nas colunas, diferem significativamente ($p \leq 0,05$)

O extrato hidroalcoólico nas concentrações de 40 e 20 mg/mL apresentou 100% de atividade, mostrando uma queda gradual até a concentração de 1,25mg/mL (fig. 2). A partir da concentração de 5 mg/mL o efeito ovicida permaneceu abaixo de 60%, diferindo estatisticamente do controle positivo e das demais concentrações. O controle negativo realizado com água destilada apresentou 9,9% de inibição da eclodibilidade e o controle positivo com tiabendazol (0,025 mg/mL) obteve 98,58% (tab.2).

Tabela2 Percentual médio da atividade ovicida do extrato hidroalcoólico de *Ocimum basilium*

	Concentrações (mg/mL)							
Tratamento	AH	40	20	10	5	2,5	1,25	Água
	A	A	A		B	C	C	C
	98,58	100	100	98,56	59,36	14,01	9,75	9,9

AH- tratamento com tiabendazol a 0,025 mg/mL

Letras maiúsculas distintas, nas colunas, diferem significativamente ($p \leq 0,05$).

A análise química do óleo essencial realizada através de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa mostrou como principais constituinte o chavicol com 34,68%, seguido do linalool com 27,68%.

DISCUSSÃO

Visto a ampla biodiversidade de nossa flora, estudos com plantas buscando produtos naturais bioativos são de fundamental importância para o desenvolvimento de novos fármacos anti-helmínticos (ASSIS et al., 2003), sendo a avaliação *in vitro*, como a realizada nesse estudo, amplamente utilizada, por constituir uma ferramenta importante na seleção plantas, bem como por possibilitar a obtenção de resultados rápidos, com menores gastos, e, sobretudo evitar o uso indiscriminado de animais de experimentação (CAMURÇA-VASCONCELOS et al., 2005).

A avaliação *in vitro* da atividade ovicida dos extratos de plantas medicinais se dá através do contato direto entre os compostos e os ovos,sugerindo atuando sobre as mitoses, impedindo sua capacidade de eclosão, como descrito para os benzimidazóis (COLES et al., 1992).

Os resultados obtidos nos testes *in vitro* mostraram ação anti-helmínticas de ambos os extratos avaliados, sendo que o óleo essencial de *O. basilicum* manteve seu potencial ovicida em todas as concentrações utilizadas, já o extrato hidroalcoólico a partir da concentração de 5mg/mL, não foi efetivo para inibir a eclosão de ovos de nematódeos gastrintestinais de ovinos. Essa diferença de eficácia pode estar relacionada aos constituintes presentes e à concentração destes com atividade anti-helmínticas, bem como às metodologias de extração utilizadas na obtenção do extrato e do óleo essencial de *Ocimum basilicum.*

A ação ovicida do extrato hidroalcoólico de *Origanum vulgare*,também da família *Lamiaceae*, embora indicando ação anti-helmíntica, somente apresentou eficácia na concentração de 80mg/mL (96,7%) quando testado contra ovos nematódeos gastrointetinais de bovinos (DIAS DE CASTRO et al., 2013), diferindo-se do presente estudo, no qual, a partir da concentração de 10 mg/mL *O . basilicum* foi eficaz (98,8%), segundo a classificação do índice de eficácia proposto pela *WorldAssociation for the Advancement of Veterinary Parasitology* (WAAVP), um produto seria efetivo quando promover acima de 90% de ação anti-helmínticas; moderadamente efetivo quando atuasse entre 80 a 90%; pouco efetivo quando a ação fosse entre 60 e 80% e não efetivo em níveis abaixo de 60% (POWERS et al., 1982).

Estudos com extratos de plantas pertencentes à mesma família do O. basilicum tem mostrado ação anti-helmíntica promissora (DIAS DE CASTRO et al., 2013; PESSOA et al., 2002), entretanto muitas são as variáveis que podem interferir no produto final de um extrato, como: época de colheita da planta; grau de umidade; parte da planta utilizada; métodos de extração e tipo de plantio (DAOUK et al., 1995).

Resultados superiores aos nossos , foram observados com extrato hidroalcoólicos das folhas de *Melia azedarach* com inibição de 100 % da eclosão dos ovos na concentração de 12,5 mg / ml contra *H. contortus* (KAMARAJ et al., 2010), o que so ocorreu com extrato de *O. Basilicum* na concentração de 20mg/mL. Entretanto estudo posterior (KAMARAJ et al., 2011) mostrou resultados próximos ao do presente estudo, com 100% de inibição da eclosão de ovos de *H. contortus* na concentração de 25 mg/mL, com extrato de cinco diferentes plantas utilizando como solvente o metanol.

Estudos com óleos essenciais de diversas plantas vêm sendo realizados em várias partes do mundo, avaliando sua ação sobre protozoários (ALMEIDA et al., 2007;

DAMBOLENA et al., 2010), insetos (GHOSH et al., 2012) e nematódeos (CARVALHO et al., 2012; PESSOA et al., 2002), com resultados promissores.

Quanto aos resultados obtidos com o óleo essencial, estes foram similares aos estudos realizados com o óleo essencial de *O. gratissimun*, planta pertencente ao mesmo gênero, com atividade anti-helmínticas sobre ovos de nematódeos gastrintestinais de ovinos próximo a 100% até a concentração de 0,25mg/mL (PESSOA et al., 2002).

Mesmo pesquisando óleos essências de plantas de diferentes famílias a eficácia próxima a 100% é obtida em menores concentrações, quando comparada a outros tipos de extratos, como também foi detectado com os óleos essenciais de *Croton zehntneri* e *Lippia sidoides* quando a inibição de 100% da eclosão de ovos ocorreu até a concentração de 1,25mg/mL (CAMURÇA-VASCONCELOS et al., 2007).

O óleo essencial de *O. basilicum* utilizado no presente estudo apresentou como constituintes majoritários Chavicol (34,68%) e Beta-linalool (27,68%), resultados próximos aos obtidos na análise do óleo essencial de diferentes espécies de *Ocimum* cultivadas no Brasil, nos quais os componentes majoritários foram: chavicol (36,81 a 41,62%) e Linalool (29,50 a 32,26%) (OLIVEIRA et al., 2013). Também os mesmos autores detectaram eucaliptol (7,68 a 9,99%), que embora em concentração menor (6,72%) no presente estudo, tem sido associado a ação anti-helmíntica (NAVARRO et al., 2008; MACEDO et al., 2009).

O chavicol está presente em diversas plantas pesquisadas, como na *Feronia limonia.* A planta apresenta o chavicol como principal constituinte (34,69%), e quando testada contra larvas dos mosquitos *Anopheles stephensi, Aedes* aegypti e *Culex quinquefasciatu*s alcançou excelentes resultados (SENTHILKUMA et al., 2013). Quanto à ação ovicida em *H. contortus*, C. *zehntneri* contendo 21,84 % chavicol também mostrou resultados promissores (CAMURÇA-VASCONCELOS et al., 2007). Embora na análise individual do principal

componente da *C. zehntneri* (anetol 63,88%) observou-se ação ovicida, quando comparado ao óleo essencial , não houve diferença, o que pode sugerir também a participação de outros contituintes como chavicol por exemplo.

O linalool, segundo maior constituinte do óleo essencial de *O. basilicum*, na concentração de 300µg/mL causou a morte de 100% dos trofozoítos de *Giardia lamblia*, enquanto que para o óleo essencial a 2 mg/mL, esta foi de 80% sugerindo ser o linalool um dos compostos com maior atividade antigiardia no óleo essencial (ALMEIDA et al., 2007). Este estudo indica a importância da ação deste constituinte sobre parasitos, o que nos leva a sugerir sua participação na ação anti-helmínticas verificada no presente estudo com o óleo de *O. basilicum*

Outro composto identificado nesse estudo, o 1,8 – cineol (eucaliptol), embora com menor concentração (6,72%), tem sua ação anti-helmínticas confirmada no estudo com o óleo essencial de *Eucalyptus*, contendo 83,89% deste constituinte (MACEDO et al., 2009). Ainda que, estes resultados não possam ser comparados aos do presente estudo, pode estar ocorrendo ação sinérgica entre os constituintes, como sugerida na avaliação nematicida do óleo essencial de *Agastache rugosa* (ZHU et al., 2013*)*. Da mesma forma, o 1,8 – cineol presente no óleo essencial de *Artemisia lancea* na concentração de 34.6% , tem mostrado ação anti-helmínticas sobre *H. contortus, mas* quando análisados separadamente, o óleo essencial e o 1,8 – cineol, mostraram inibição da eclossão de ovos de 99.4% e 74.8%, respectivamente (ZHU et al., 2013).

Embora o chavicol e o linolool sejam os principais contituintes do óleo essencial de *O. Basilicum*, contribuindo com o excelente resultado verificado no presente estudo, não se pode desconsiderar os demais contituintes, mesmo que em menor concentração, pois esta ação

sinérgica entre os componentes, desencadea interações entre as múltiplas moleculas que agem sobre parasito (MARIE-MAGDELEINE et al., 2009).

CONCLUSÃO

Baseado nos resultados obtidos no presente estudo pode-se concluir que tanto o extrato hidroalcoólico como o óleo essencial de *O. basilicum* possuiem atividade anti-helmínticas sobre ovos de nematódeos gastrintestinais de ovinos e que os principais constiuintes do óleo são o chavicol e o linalool. Futuros estudos são necessários para avaliar outras concentrações do óleo e seus constituintes e verificar o seu potencial antihelmíntico *in vitro* e *in vivo*, bem como a toxicidade destes.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, I.; ALVIANO, D. S.; VIEIRA, D P.; ALVES, P. B.; BLANK, A. F.; LOPES, A. H. C. S.; ALVIANO, C .S; ROSA, M. S. S. Antigiardial activity of *Ocimum basilicum* essential oil. **Parasitology Research** 101:443–452. 2007

ASSIS, L.M.; BEVILAQUA, C.M.L.; MORAIS, S. M... VIEIRA, L. S.; COSTA, C. T,; SOUZA, J. A. Ovicidal and larvicidal activity in vitro of *Spigelia anthelmia* Linn extracts on *Haemonchus contortus*. **Veterinary Parasitology**, v.117, n.1-2, p.43-9, 2003.

BOWN, D.. The herb Society of America- **Encyclopedia of Herbs & Theirs Uses.** Dorling Kindersley Publishing, Inc., New York. 1995.

CAMURÇA-VASCONCELOS, A.L.F.; BEVILAQUA, C.M.L.; MORAIS, S.M.; MACIEL, M.V.; COSTA, C.T.C.; MACEDO, I.T.F.; OLIVEIRA, L.M.B.; BRAGA, R.R.; SILVA, R.A.; VIEIRA L.S. Anthelmintic activity of *Croton zehntneri* and *Lippia sidoides* essential oils. **Veterinary Parasitology**, v.148, n.3-4, p.288-294, 2007.

CAMURÇA-VASCONCELOS, A.L.F.; MORAIS, S.M.; SANTOS, L.F.L. Validação de plantas medicinais com atividade anti-helmíntica. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.7, n.3, p.97-106, 2005.

CARVALHO, C.O.; CHAGASB, A.C.S.; COTINGUIBAC, F. The anthelmintic effect of plant extracts on *Haemonchus contortus* and *Strongyloides venezuelensis.* **Veterinary Parasitology** 183, 260– 268, 2012.

COLES, G.C.; BAUER, C.; BORGSTEEDE, F.H.M. World Association for the advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) methods for detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. **Veterinary Parasitology**, v.44, p.35-44, 1992.

DAMBOLENA, J. S; ZUNINO, M. P; LOPEZ, A.G; RUBINSTEIN, H. R; ZYGADLO, J. A; MWANGI, J. W; THOITHI, G. N; KIBWAGE, I. O; MWALUKUMBI, J. M; KARIUKI. S T. Essential oils composition os *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum gratissimum* L. from Kenya and their inhibitory effects on growth and fumonisim production by Fusarium verticillioides. **Innovative Food Science and Emmerging Technologies,** 11: 410-414, 2010

DAOUK, RASHA K.; DAGHER, SHAWKY M.; SATTOUT, ELSA J. Antifungal Activity of the Essential Oil of *Origanum syriacum* L. **Journal of Food Protection**, Number 10, October, pp. 1059-1064 , pp. 1147-1149(3). 1995.

DIAS DE CASTRO, L. L; MADRID, I. M; AGUIAR, C. L G; CASTRO, L. M; CLEFF, M. B; BERNE, M. E. A; LEITE, F. P. L. *Origanum vulgare* (*Lamiaceae*) ovicidal potential on gastrointestinal nematodes of cattle. **Ciência Animal Brasileira.**, Goiania, v.14, n.4, p. 508-513, 2013.

ECHEVARRIA, F., BORBA, M. F. S., PINHEIRO, A. C., WALLER, P. J., HANSEN, J. W . The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in Southern Latin America: Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, The Netherlands, v. 62, p.199-206, 1996.

GHOSH, A; CHOWDHURY,N; CHANDRA,G. Plant extracts as potential mosquito larvicides. **Indian Journal of Medical Research** 135, pp 581-598, 2012.

GITHIGIA SM, THAMSBORG, S. M., MUNYUA, W. K. Impact of gastrintestinal helminths on production in goats in Kenia. **Small Ruminant Research**; v.42(1), p.21-29, 2001.

GITHIORI, J.B.; HÖGLUND, J.; WALLER, P.J.; BAKER, R. L. Anthelmintic activity of preparations derived from *Myrsine africana* and *Rapanea melanophloeos* against the nematode parasite, *Haemonchus contortus*, of sheep. **Journal of Ethnopharmacology**, v.80, p.187-91, 2002.

GORDON, H. M.; WHITLOCK, H. V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **Journal of the Council for Scientific and Industrial Research**, v.12, p.50-52, 1939.

HUBERT, J.; KERBOEUF, D.A. Microlarval development assay for the detection of anthelmintic resistance in sheep nematodes**. Veterinary Research**, v.130, n.20, p.442-446, 1992.

KAMARAJ, C; RAHUMAN, A. A; ELANGO, G; BAGAVAN, A; ZAHIR, A. A; Anthelmintic activity of botanical extracts against sheep gastrointestinal nematodes, *Haemonchus contortus*. **Parasitol Res**., 109:37-45. 2011.

KAMARAJ, C; RAHUMAN, A; MOHAMED, M. J; ELANGO, G; RAJAKUMAR, G; ZAHIR, A. A; SANTHOSHKUMAR, T; MARIMUTH, S; Ovicidal and larvicidal activity of crude extracts of *Melia azedarach* against *Haemonchus contortus* (*Strongylida*) **Parasitology Research**,. 106:1071. 2010.

MACEDO, I. T. F; BEVILAQUA, C.M.L; OLIVEIRA, L. M. B; CAMURÇA-VASCONCELOS. A. L. F; VIEIRA, L. S; OLIVEIRA, F. R; QUEIROZ-JUNIOR, E. M; PORTELA, B. G; BARROS, R. S; CHAGAS, A. C. S. Atividade ovicida e larvicida in vitro

do óleo essencial de *Eucalyptus globulus* sobre *Haemonchus contortus*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária,** Jaboticabal, v. 18, n. 3, p. 62-66, jul.-set, 2009.

MARIE-MAGDELEINE, C.; HOSTE, H.; MAHIEU, M.; VARO, H.; ARCHIMEDE, H.. *In vitro* effects of *Cucurbita moschata* seed extracts on *Haemonchus contortus*. **Veterinary Parasitology**. 161, 99–105, 2009.

MOTA, M. L.; LOBO, L. T. C; COSTA, J. G. M; COSTA, L. S; ROCHA, H. A. O; ROCHA E SILVA, L. F; POHLIT, A. M; NETO, V. F. A. In Vitro and In Vivo Antimalarial Activity of Essential Oils and Chemical Components from Three Medicinal Plants Found in Northeastern Brazil. **Planta Med,** 78: 658–664. 2012

NAVARRO, M. C. et al. *Anisakis simplex* s.l.: Larvicidal activity of various monoterpenic derivatives of natural origin against L3 larvae in vitro and in vivo. **Experimental Parasitology**, v. 120, n. 4, p. 295-299, 2008.

OLIVEIRA, L. M. B.; BEVILAQUA, C. M.; COSTA, C. T. Anthelmintic activity of *Cocos nucifera* L. against sheep gastrointestinal nematodes. **Veterinary Parasitology** v.159, p.55–59, 2009.

OLIVEIRA, R.A. de.; MOREIRA, I.S.; OLIVEIRA, F.F. Linalool and methyl chavicol present basil (*Ocimum sp.*) cultivated in Brazil. **Revista Brasileira de Plantas. Medicinais**, Campinas, v.15, n.2, p.309-311, 2013.

PESSOA, L.M.; MORAIS, S.M.; BEVILAQUA, C.M.L. Anthelmintic activity of essential oil of *Ocimum gratissimum* Linn. and eugenol against *Haemonchus contortus*. **Veterinary Parasitology**. V.109, p.59–63. 2002.

POWERS, K. G., L. B. WOOD, J. ECKERT., T. GIBSON, H. J. SMITH. World associations for advancement of veterinary parasitology (W.A.A.V.P) Guidelines for evaluating the efficacy of antihelmintics in animals. **Veterinary Parasitology**. 10: 265-284; 1982.

ROBERTS, F.H.S.; O'SULLIVAN, S.P. Methods for egg counts and larvae cultures for strongyles infesting the gastrointestinal tract of cattle. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.1, p.99-102, 1950.

SENTHILKUMA, A; JAYARAMAN, M; VENKATESALU, V. Chemical constituents and larvicidal potential of *Feronia limonia* leaf essential oil against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* **Parasitology Research**. 112:1337–1342, 2013.

VIEIRA, L.S.; LÔBO, R.N.B.; CAVALCANTE, A.C.R. Panorama mundial dos métodos de controle de endoparasitoses **4º Simpósio Internacional Sobre Caprinos e Ovinos de Corte Feira Nacional do Agronégocio da Caprino-Ovinocultura de Corte** João Pessoa – Paraíba – Brasil 2009

ZHU, L; DAÍ, J.L; YANG, L; QIU, J. In vitro ovicidal and larvicidal activity of the essential oil of *Artemisia lancea* against *Haemonchus contortus* (Strongylidae) **Veterinary Parasitology** 195, 112– 117, 2013.

4 CONCLUSÃO GERAL

O óleo essencial e o extrato hidroalcoólico de *Ocimum basilicum* apresentam atividade nos testes *in vitro* de inibição da eclodibilidade de ovos de nematódeos gastrintestinais de ovinos, sendo assim esta planta demonstra ter potencial como fitoterápico. Os principais componentes do óleo essencial foram o chavicol e o linalool.

A continuidade deste estudo poderá esclarecer a ação individual dos constituintes do óleo nas demais fases de vida destes parasitos, como larvas e adultos através de análises *in vitro* e *in vivo,* para que assim, este extrato possa vir a ser usado como uma alternativa no controle destas parasitoses.

5 REFERÊNCIAS

ADIGÜZEL, A; GULLUCE, M; SENGUL, M; OGUTCU, H; SAHIN, F; KARAMAN, I. Antimicrobial effects of Ocimum basilicum (Labiatae) extract. **Turkish J Biol.** 29: 155–160, 2005.

ALMEIDA, I; ALVIANO D S; VIEIRA, D P; ALVES, P B; BLANK, A F; LOPES, A. H. C. S; ALVIANO, C .S; ROSA, M. S. S. Antigiardial activity of *Ocimum basilicum* essential oil. **Parasitology Research.** 101:443–452, 2007.

AMARANTE, A. F. T.; BARBOSA, M. A. Seasonal variations in populations of infective larvae on pasture and nematode faecal egg output in sheep. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**., *7*: 127-133, 1995.

AMARANTE, A. F. T.; GODOY, W. A. C.; BARBOSA, M. A. Nematode egg counts, packed cell volume and body weight as parameters to identify sheep resistant and susceptible to infections by gastrointestinal nematodes. **Ars Veterinaria***., 14*: 331-339, 1998.

AMARANTE, A.F.T. Controle integrado de helmintos de bovinos e ovinos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária***,* v.13, p.68-71, 2004.

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

AMARANTE, A.F.T.; SALES, R.O. Controle de Endoparasitoses dos Ovinos: Uma Revisão. **Revista Brasileira de Higiene Sanidade Animal**. v. 01. n. 02, p. 14 – 36, 2007.

ARAÚJO, J.V.; GUIMARÃES, M.P.; CAMPOS, A.K.; SÁ, N.C.; SARTI, P.; ASSIS, C.L. Control of bovine gastrointestinal nematode parasites using pellets of the nematode-trapping fungus *Monacrosporium thaumasium*. **Ciência Rural**, v.34, p.457-463, 2004.

ASSIS, L.M.; BEVILAQUA, C.M.L.; MORAIS, S.M.. VIEIRA, L. S.; COSTA, C. T,; SOUZA, J. A. Ovicidal and larvicidal activity in vitro of *Spigelia anthelmia* Linn extracts on *Haemonchus contortus*. **Veterinary Parasitology.** 2003.

BORA, K. S; ARORA, S; SHRI, R. Role of *Ocimum basilicum* L. in Prevention of Ischemia and Reperfusion-induced Cerebral Damage, and Motor Dysfunctions in Mice Brain, **Journal of Ethnopharmacology**, 137(3), 1360-1365, 2011.

BOWN, D.. The herb Society of America**- Encyclopedia of Herbs & Theirs Uses.** Dorling Kindersley Publishing, Inc., New York. 1995.

BRICARELLO, P.A.; GENNARI, S.M ; SEQUEIRA, T.C ; VAZ, C.M.S.L.; GONÇALVES E GONÇALVES, I. . Response of Corriedale and Crioula Lanada sheep to artificial primary infection with *Haemonchus contortus*. **Veterinary Research Communications**, v. 26, n.6, p. 447-457, 2002.

CAMURÇA-VASCONCELOS, A.L.F.; MORAIS, S.M.; SANTOS, L.F.L.; ROCHA, M.F.G.; BEVILAQUA, C.M.L. Validação de plantas medicinais com atividade anti-helmíntica. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.7, n.3, p.97-106, 2005.

CAMURÇA-VASCONCELOS, A.L.F.; BEVILAQUA, C.M.L.; MORAIS, S.M.; MACIEL, M.V.; COSTA, C.T.C.; MACEDO, I.T.F.; OLIVEIRA, L.M.B.; BRAGA, R.R.; SILVA, R.A.; VIEIRA L.S. Anthelmintic activity of *Croton zehntneri* and *Lippia sidoides* essential oils. **Veterinary Parasitology**, v.148, n.3-4, p.288-294, 2007.

CARVALHO, C.O.; CHAGAS B, A.C.S.; COTINGUIBAC, F. et al. The anthelmintic effect of plant extracts on *Haemonchus contortus* and *Strongyloides venezuelensis* **Veterinary Parasitology** 183, 260– 268, 2012.

CASTRO, A.G. **Defensivos agrícolas como um fator ecológico**. Jaguariúna: EMBRAPA - CNPDA, 20p., 1989.

COLES, G.C.; BAUER, C.; BORGSTEEDE, F.H.M. et al. World Association for the advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) methods for detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. **Veterinary Parasitology**, v.44, p.35-44, 1992.

DAMBOLENA, J. S; ZUNINO, M. P; LOPEZ, A.G; RUBINSTEIN, H. R; ZYGADLO, J. A; MWANGI, J. W; THOITHI, G. N; KIBWAGE, I. O; MWALUKUMBI, J. M; KARIUKI. S T. Essential oils composition os *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum gratissimum* L. from Kenya and their inhibitory effects on growth and fumonisim production by Fusarium verticillioides. **Innovative Food Science and Emmerging Technologies,** 11: 410-414, 2010.

DAOUK, RASHA K.; DAGHER, SHAWKY M.; SATTOUT, ELSA J. Antifungal Activity of the Essential Oil of *Origanum syriacum* L. **Journal of Food Protection**, Number 10, pp. 1059-1064 , pp. 1147-1149, 1995.

DIAS DE CASTRO, L. L; MADRID, I. M; AGUIAR, C. L. G.; CASTRO, L. M; CLEFF, M. B; BERNE, M. E. A. A; LEITE, F. P. L. *Origanum vulgare* (Lamiaceae) ovicidal potential on gastrointestinal nematodes of cattle. **Ciência Animal Brasileira.**, Goiânia, v.14, n.4, p. 508-513,. 2013.

DONALD, A.D.; MORLEY, F.H.W.; WALLER, P.J.; AXELSEN, A. & DONELLY, J.R. Availability to of gastrintestinal nematode infection arising from summer contamination of pastures. **Australian Veterinary Journal**. *29*: 189-20, 1978.

ECHEVARRIA, F. Epidemiologia de nematódeos e o controle estratégico em ovinos lanados. In Padilha, T. **Controle dos nematódeos gastrintestinais em ruminantes**. Coronel Pacheco: EMBRAPA-CNPGL, 258p. 1996.

ECHEVARRIA, F., BORBA, M. F. S., PINHEIRO, A. C., WALLER, P. J., HANSEN, J. W . The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in Southern Latin America: Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, The Netherlands, v. 62, p.199-206, 1996.

FRANCA, C. S; MENEZES, F. S; COSTA, L. C. B; NICULAU, E. S; ALVES, P. B; PINTO, J. E.B; MARÇAL, R. M. Analgesic and antidiarrheal properties of Ocimum selloi essentialoil in mice. **Fitoterapia** 2008; 79: 569–573. 2008

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

FURTADO, K.S. **Alternativas fitoterápicas para o controle da verminose ovina no estado do Paraná: testes *in vitro* e *in vivo***. 147f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Curto de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal do Paraná, 2006.

GHOSH, A; CHOWDHURY*,N; CHANDRA*,G. Plant extracts as potential mosquito larvicides. **Indian J Med Res** 135, pp 581-598, 2012.

GIRME, A. S.; BHALKE R. D.; GHOGARE, P.B.; TAMBE, V.D.; JADHAV, R.S. and Nirmal, S.A. Comparative in vitro anthelmintic activity of *Mentha piperita* and Lantana *camara* from Western India. **Dhaka University Journal of Pharmaceuthical Sciences** 5(1–2):5–7, 2006.

GITHIGIA, S. M,; THAMSBORG, S. M.; MUNYUA WK.; et al. Impact of gastrintestinal helminths on production in goats in Kenia. **Small Ruminant Research**; v.42 (1), p.21-29, 2001.

GITHIORI, J.B.; HÖGLUND, J.; WALLER, P.J.; BAKER, R. L. Anthelmintic activity of preparations derived from *Myrsine africana* and *Rapanea melanophloeos* against the

nematode parasite, *Haemonchus contortus*, of sheep. **Journal of Ethnopharmacology**, v.80, p.187-91, 2002.

GOVINDARAJAN, M; SIVAKUMAR, R; RAJESWARY, M; YOGALAKSHMI, K. Chemical composition and larvicidal activity of essential oil from *Ocimum basilicum* (L.) against *Culex tritaeniorhynchus, Aedes albopictus and Anopheles subpictus* (Diptera: Culicidae) **Experimental Parasitology**, 134: 7-11, 2013.

GONÇALVES, P. C. & VIEIRA, J. M. S. Primeira contribuição à sobrevivência de ovos e larvas de nematódeos de ovinos na pastagem, no Rio Grande do Sul. *Rev.* **Fac. Agron. Vet***., 6*: 95-103, 1963.

GORDON, H. M.; WHITLOCK, H. V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **Journal of the Council for Scientific and Industrial Research**, v.12, p.50-52, 1939.

GRONVOLD, J., HENRIKSEN, S. A, LARSEN, M., NANSEN, P., WOLSTRUP, J. Aspects of biological control - With special reference to arthropods, protozoans and helminths of domesticated animals. **Veterinary Parasitology**., v**.**64, p.47-64,. 1996

HUBERT, J.; KERBOEUF, D.A. Microlarval development assay for the detection of anthelmintic resistance in sheep nematodes**. Veterinary Research**, v.130, n.20, p.442-446, 1992.

IBGE – INSTIUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. [on line] Disponível em: <http/ www.ibge.gov.br>. Acesso em: 10 de dezembro 2013.

JARDIM, W. R. **Os ovinos**. 4 ed. Livraria Nobel, São Paulo, 193 p., 1987.

KAMARAJ, C.; RAHUMAN, A. A.; ELANGO, G.; BAGAVAN, A.; ZAHIR, A. A.; Anthelmintic activity of botanical extracts against sheep gastrointestinal nematodes, *Haemonchus contortus*. **Parasitology Research**., 109:37-45. 2011.

KAMARAJ, C.; RAHUMAN, A.; MOHAMED, M. J.; ELANGO, G.; RAJAKUMAR, G.; ZAHIR, A. A.; SANTHOSHKUMAR, T.; MARIMUTH, S. Ovicidal and larvicidal activity of crude extracts of *Melia azedarach* against *Haemonchus contortus* (Strongylidae) **Parasitology Research**. 106:1071., 2010.

KRECEK, R.C.; WALLER, P.J. Towards the implementation of the ‘‘basket of options’’ approach to helminth parasite control of livestock: Emphasis on the tropics/subtropics. **Veterinary Parasitology**, v.139, p.270–282, 2006.

LE JAMBRE, L. F. Relationship of blood loss to worm numbers, biomass and egg production in *Haemonchus* infected sheep. **International Journal for Parasitology**. V. 25, p. 269-273, 1995.

MACEDO, I. T. F; BEVILAQUA, C.M.L; OLIVEIRA, L. M. B; CAMURÇA-VASCONCELOS. A. L. F; VIEIRA, L. S; OLIVEIRA, F. R; QUEIROZ-JUNIOR, E. M; PORTELA, B. G; BARROS, R. S; CHAGAS, A. C. S. Atividade ovicida e larvicida in vitro do óleo essencial de *Eucalyptus globulus* sobre *Haemonchus contortus*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária.,** Jaboticabal, v. 18, n. 3, p. 62-66, jul.-set. 2009.

MAPA – MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. [on line] Disponível em:<http/ http://www.agricultura.gov.br> Acesso em: 21 de janeiro de 2013.

MARIE-MAGDELEINE, C.; HOSTE, H.; MAHIEU, M.; VARO, H.; ARCHIMEDE, H. In vitro effects of *Cucurbita moschata* seed extracts on *Haemonchus contortus*. **Veterinary Parasitology**. 161, 99–105, 2009.

MARTINEZ-VELAZQUEZ, M.; CASTILLO-HERRERA, G.A.; ROSARIO-CRUZ, R. et al. Acaricidal effect and chemical composition of essential oils extracted from *Cuminum cyminum*, *Pimenta dioica* and *Ocimum basilicum* against the cattle tick *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* (Acari: Ixodidae) **Parasitology Research** v. 108, p.481–487, 2011.

MATOS, F. J. A. **Farmácias vivas**. 3.ed. Fortaleza: UFC. 1998. 220 p.

MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais** - guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil. Fortaleza: Imprensa Universitária/UFC, 344 p. 2000.

MELO, A.C.F.L.; BEVILAQUA, C.M.L.; REIS, I.F. Resistência aos anti-helmínticos benzimidazóis em nematóides gastrintestinais de pequenos ruminantes do semi-árido nordestino brasileiro. **Ciência Animal Brasileira**, v.10, p. 294-300, 2009.

MELO, E. P. **Disponibilidade, composição química e contaminação por helmintos, de forrageiras com diferentes hábitos de crescimento, pastejadas por ovinos**. Maringá, 2000. 61p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Curso de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Estadual de Maringá, 2000.

MOLENTO, M. B.; TASCA, C.; GALLO, A.;FERREIRA, M.; BONONI, R.; STECCA, E. **Ciência Rural, Santa Maria**, v.34, n.4, p.1139-1145, jul-ago, 2004.

MOTA, M. L; LOBO, L. T. C; COSTA, J. G. M; COSTA, L. S; ROCHA, H. A. O; ROCHA E SILVA, L. F; POHLIT, A. M; NETO, V. F. A. In Vitro and In Vivo Antimalarial Activity of Essential Oils and Chemical Components from Three Medicinal Plants Found in Northeastern Brazil. **Planta Med,** 78: 658–664. 2012.

NAVARRO, M. C. et al. *Anisakis simplex* s.l.: Larvicidal activity of various monoterpenic derivatives of natural origin against L3 larvae in vitro and in vivo. **Experimental Parasitology**, v. 120, n. 4, p. 295-299, 2008.

NGINYI, J.M.; DUNCAN, J.L.; MELLOR, D.J.; et al. Epidemiology of parasitic gastrointestinal nematode infections of ruminants on small order farms in central Kenya. Research in **Veterinary Science**, v.70, p.33-39, 2001.

OLIVEIRA, L.M.B.; BEVILAQUA, C. M.; COSTA, C.T; et al. Anthelmintic activity of *Cocos nucifera* L. against sheep gastrointestinal nematodes. **Veterinary Parasitology** v.159, p.55–59, 2009.

OLIVEIRA, R.A. de; MOREIRA, I.S.; OLIVEIRA, F.F. Linalool and methyl chavicol present basil (*Ocimum sp.*) cultivated in Brazil. **Revista Brasileira de Plantas medicinais**., Campinas, v.15, n.2, p.309-311, 2013.

PATON, A. A synopsis of *Ocimum* L. (Labiatae) in Africa. **Kew Bul**. v. 47, p. 403-435, 1992.

PEREIRA, R. C.A; MOREIRA, A. L. M. Manjericão cultivo e utilização. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**- Fortaleza**,** 31 p.; 2011.

PESSOA, L.M.; MORAIS, S.M.; BEVILAQUA, C.M.L.; et al., . Anthelmintic activity of essential oil of *Ocimum gratissimum* Linn. and eugenol against *Haemonchus contortus*. **Veterinary Parasitology**. V.109, p.59–63. 2002.

PINHEIRO, A. C. Aspectos da verminose ovina. In: JORNADA TÉCNICA DE PRODUÇÃO OVINA NO RIO GRANDE DO SUL, 1., 1979, Bagé. **Anais**... Bagé, p.139-148**.** 1979.

POWERS, K. G. L. B.; WOOD, J.; ECKERT., T.; GIBSON, H. J.; SMITH. World associations for advancement of veterinary parasitology (W.A.A.V.P) Guidelines for evaluating the efficacy of antihelmintics in animals. **Veterinary Parasitology***.* 10: 265-284. 1982.

ROBERTS, F.H.S.; O'SULLIVAN, S.P. Methods for egg counts and larvae cultures for strongyles infesting the gastrointestinal tract of cattle. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.1, p.99-102, 1950.

ROCHA, R.A.; BRESCIANI, K.D.S.; BARROS, T.F.M.; FERNANDES, L.H.; SILVA, M.B.; AMARANTE, A.F.T. Sheep and cattle grazing alternately: Nematode parasitism and pasture decontamination. **Small Ruminant Research**., v. 75, p. 135-143, 2008.

SANTOS, V. T.; GONÇALVES, P. C. Verificação de estirpes resistentes de *Haemonchus contortus* resistente ao thiabendazole no Rio Grande do Sul (Brasil**). Revista de Faculdade de Agronomia e Veterinária**, v. 9, p. 201-209, 1967.

SENTHILKUMA, A; JAYARAMAN, M; VENKATESALU, V. Chemical constituents and larvicidal potential of *Feronia limonia* leaf essential oil against *Anopheles stephensi, Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* **Parasitology Research**. 112:1337–1342. 2013.

SIMON, J. E. New crop introduction: exploration, research and commercialization of aromatic plants in the new world. **Acta Horticulturae**, Bélgica, n. 331, p.209-221, 1993.

SINOTT, M.C. ; CUNHA FILHO, N. A. ; Dias de Castro, L. L. ; LORENZON, L. B. ; PINTO, N. B. ; CAPELLA, G. A. ; LEITE, F. P. L. . *Bacillus* spp. toxicity against *Haemonchus contortus* larvae in sheep fecal cultures. **Experimental Parasitology**, v. 132, p. 103-108, 2012.

SOUTHCOTT, W.H.; MAJOR, G.W.; & BARGER, I. A.. Seasonal pasture contamination and availability of nematodes for grazing sheep. **Australian Journal of Agricutural Research***., 27* (2): 277-286, 1976.

VAN WYK, J.A.; MALAN, F.S.; BATH, G.F. Rampant anthelmintic resistance in sheep in South Africa – what are the options? In: **Workshop of managing anthelmintic resistance in endoparasites**,1997, Sun City, South Africa. Proceedings. p.51-63., 1997. 1997.

VIEIRA L.S. **Alternativas de controle da verminose gastrintestinal dos pequenos ruminantes**. Circular Técnica, Embrapa Caprinos, Sobral.10p. 2003.

VIEIRA, L. S. Métodos alternativos de controle de nematóides gastrintestinais em caprinos e ovinos. **Tecnologia & Ciências Agropecuárias**, v. 2, n. 2, p. 49-56, 2008.

VIEIRA, L.S.; LÔBO, R.N.B.; CAVALCANTE, A.C.R. et al. Panorama mundial dos métodos de controle de endoparasitoses **4º Simpósio Internacional Sobre Caprinos e Ovinos de Corte Feira Nacional do Agronégocio da Caprino-Ovinocultura de Corte** João Pessoa – Paraíba – Brasil, 2009.

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

Zhu, L; Daí, J.L; Yang, L; Qiu, J. In vitro ovicidal and larvicidal activity of the essential oil of *Artemisia lancea* against *Haemonchus contortus* (Strongylidae) **Veterinary Parasitology** 195, 112– 117, 2013.

6 APÊNDICE

6.1 Diretrizes para autores da revista Arquivos do Instituto Biológico

Missão

- Publicar, em português, inglês ou espanhol, artigos e comunicações científicas originais, além de revisões, que contribuam para o desenvolvimento das ciências agrárias no Brasil.

Escopo e Política Editorial

- A Revista Arquivos do Instituto Biológico, publicada trimestralmente, aceita, para submissão, artigos originais de pesquisa científica em sanidade animal e vegetal voltados ao agronegócio e suas implicações no agroambiente, incluindo nesse escopo a qualidade e a segurança alimentar. Aceita, também, artigos sobre pragas sinantrópicas. Todos os trabalhos devem se enquadrar nas normas redatoriais.

Informações básicas

- Os trabalhos enviados para publicação deverão ser inéditos e destinados exclusivamente a esta Revista.A matéria publicada será de inteira responsabilidade do(s) autor(es).

Os trabalhos não aceitos para publicação serão comunicados aos autores pelo Comitê Editorial.

- O Comitê Editorial fará análise dos trabalhos antes de submetê-los aos Consultores Científicos.A publicação dos trabalhos dependerá da análise efetuada pelo Corpo de Consultores Científicos e da aprovação do Comitê Editorial.

- Os artigos serão publicados em ordem de aprovação.

Serão considerados para publicação Artigos Científicos e Comunicações Científicas.

- Artigos de Revisão poderão ser aceitos a critério do Comitê Editorial.

Eventuais dúvidas podem ser encaminhadas ao editor da Revista "Arquivos do Instituto Biológico", Dra. Silvia Regina Galleti, Instituto Biológico - Av. Cons. Rodrigues Alves, 1252, CEP 04014-002, São Paulo, SP - Fone: (11) 5087-1749 E-mail:arquivos@biologico.sp.gov.br.

Apresentação: os trabalhos deverão ser digitados em Word 97 ou versão superior, página A4, com margens de 2,5 cm, fonte Times New Roman, tamanho 12, espaço duplo e páginas numeradas em seqüência.

- As linhas deverão ser numeradas de forma contínua, utilizando a ferramenta Layout em Configurar Página.

- O máximo de páginas será 25 para artigos de revisão, 20 para artigos científicos e 10 para comunicação científica, incluindo tabelas e figuras.

Artigo científico: compreenderá os seguintes itens: título, nome do(s) autor(es), endereço do primeiro autor e local de origem dos demais autores, resumo em português, palavras-chave, título em inglês, abstract, key words, introdução, material e métodos, resultados, discussão, conclusões, agradecimentos e referências.

Comunicação científica: compreenderá os seguintes itens: título, nome do(s) autor(es), endereço do primeiro autor e local de origem dos demais autores, resumo em português, palavras-chave, título em inglês, abstract, key words, texto sem subdivisões e referências.

Artigo de revisão: compreenderá os seguintes itens: título, nome do(s) autor(es), endereço do primeiro autor e local de origem dos demais autores, resumo em português, palavras-chave, título em inglês, abstract, key words, texto sem subdivisões e referências.

Título: embora breve, deverá indicar com precisão o assunto tratado no artigo, focalizando bem a sua finalidade principal.

Endereço(s) do(s) autor(es): abaixo do(s) nome(s) do(s) autor(es), com chamada numérica. Descrever endereço postal (Instituição/Universidade, Centro/Faculdade, Laboratório/Departamento, estado, país) e eletrônico do autor principal. No rodapé da primeira lauda descrever somente a Instituição e Departamento dos demais autores.

Resumo: deverá apresentar concisamente o objetivo do trabalho, material e métodos e conclusões, em um único parágrafo. Não ultrapassar 250 palavras.

Palavras-chave: abaixo do resumo e separado por um espaço, citar no máximo cinco palavras-chave, separadas por vírgula. Evitar termos que apareçam no título.

Abstract: apresentar uma tradução para o inglês, do título do trabalho e do resumo. A seguir, relacionar também em inglês (ou espanhol) as mesmas palavras-chave (key words, palabras-clave) já citadas. Não ultrapassar 250 palavras.

Introdução: descrever a natureza e o objetivo do trabalho, sua relação com outras pesquisas no contexto do conhecimento existente e a justificativa da pesquisa feita.

Material e Métodos: apresentar descrição breve, porém suficiente para permitir uma repetição do trabalho. Técnicas e processos já publicados, exceto quando modificados, deverão ser apenas citados. Nomes científicos de espécies, bem como drogas, deverão ser citados de acordo com regras e padrões internacionais.

Resultados: apresentá-los acompanhado de tabelas e/ou figuras, quando necessário. As tabelas e figuras devem ser inseridas após as referências.

Discussão: discutir os resultados obtidos comparando-os com os de outros trabalhos publicados (resultados e discussão poderão fazer parte de um único item).

Tabelas e Figuras: incluir título claro e conciso que possibilite o seu entendimento sem consultas ao texto. As tabelas não deverão conter linhas verticais. No texto, use a palavra abreviada (ex.: Fig. 3). As figuras devem estar no formato jpg (fotos) ou gif (gráficos e esquemas) e com tamanho inferior a 500 Kb. As figuras originais ou com maior resolução poderão ser solicitadas após o aceite. Devem ser enviadas em arquivos individuais e nomeadas de acordo com o número da figura. Exemplos: Fig1.gif, Fig2.jpg.

Conclusões: serão citadas em ordem de importância. Poderão constituir um item à parte ou serem incluídas na discussão.

Agradecimentos: poderão ser incluídos a pessoas ou instituições. Referências e citações no texto: citações no texto e referências estão diretamente vinculadas. Todos os autores citados devem figurar nas referências, exceção para informações obtidas por canais informais que deverão ser citadas apenas no texto: (JUNQUEIRA, comunicação pessoal), (JUNQUEIRA, informação verbal). A referência no texto deve seguir o sistema sobrenome do autor e ano de publicação e deverá estar em caixa alta reduzida ou versalete, tal como: 1 autor - ALLAN (1979) ou (ALLAN, 1979); 2 autores – LOPES; MACEDO (1982) ou (LOPES; MACEDO, 1982); mais de 2 autores - BESSE et al. (1990) ou (BESSE et al., 1990); coincidências de autoria e ano de publicação - (CURI, 1998a), (CURI, 1998b) ou (CURI, 1998a, 1998b). As referências

deverão ser baseadas na Norma NBR 6023/2002, da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), e estar em ordem alfabética de primeiro autor. A exatidão dos dados nas referências é da responsabilidade dos autores.