

Influência do resíduo líquido do sisal (*Agave sisalana*, Perrine) sobre a eclosão de ovos e o desenvolvimento larvar, *in vitro*, de nematóides gastrintestinais de ovinos.

SILVEIRA, Roberta Xavier¹; CHAGAS, Ana Carolina Souza²; BOTURA, Mariana Borges³; BATATINHA, Maria José Moreira³; CARVALHO, Camila Olivo de²; BEVILAQUA, Cláudia Maria Leal⁴; BRANCO, Alexandre⁵; MACHADO, Elane de Alencar Arrais⁶; BORGES, Simone Lopes⁷; ORNELAS-ALMEIDA, Maria Angela³.

¹ Bolsista FAPESB, Programa de Pós-graduação em Ciências Animal nos Trópicos, Escola de Medicina Veterinária da UFBA.

² Embrapa – Pecuária Sudeste/ Laboratório de Sanidade Animal

³ Escola de Medicina Veterinária da UFBA/ Departamento Patologia e Clínicas

⁴ Universidade Estadual do Ceará/ Departamento de Medicina Veterinária

⁵ Universidade Estadual de Feira de Santana/ Departamento de Fitoquímica.

⁶ Bolsista PIBIT/CNPq, Escola de Medicina Veterinária da UFBA/ Departamento Patologia e Clínicas.

⁷ Bolsista FAPESP, Escola de Medicina Veterinária da UFBA/ Departamento Patologia e Clínicas.

RESUMO

A utilização do sisal na obtenção de produtos com ação antiparasitária é uma alternativa de diversificação da exploração do setor agropecuário. O objetivo deste estudo foi avaliar a ação do resíduo líquido de *Agave sisalana* sobre o desenvolvimento, *in vitro*, de nematóides gastrintestinais de ovinos. O resíduo líquido das folhas de *A. sisalana* obtido pelo processo de desfibramento, foi utilizado nos testes de eclosão de ovos (TEO) e desenvolvimento larvar (TDL) de nematóides gastrintestinais (NGI) de ovinos. Houve inibição da eclosão de ovos e o percentual de inibição aumentou significativamente ($p < 0,05$) com o aumento da concentração do resíduo do sisal. As CE50 e CE95 para inibição da eclosão de ovos foram, respectivamente, 6,78 e 23,06mg/mL. A inibição do desenvolvimento de larvas no TDL variou entre zero e 100%. Os testes *in vitro* utilizados para avaliar a ação do resíduo líquido da folha da *A. sisalana* sobre ovos e larvas de NGI demonstram o potencial antiparasitário do sisal.

Palavras-chave: *Agavaceae*, fitomedicina, nematóides gastrintestinais.

INTRODUÇÃO

As nematodeoses gastrintestinais são responsáveis por prejuízos econômicos para criação de ovinos, devido à alta prevalência e patogenicidade para estes animais. O desenvolvimento de parasitos resistentes aos anti-helmínticos tem sido um problema em rebanhos brasileiros e por isto outros meios de controle vem sendo investigado como o uso de extratos vegetais. O sisal (*Agave sisalana*) se destaca dentre a *Agavaceae* pela produção de fibras e princípios ativos que agem sobre insetos (PIZZARRO et al., 1999), nematóides (DOMINGUES, 2008) e moluscos (GARCES & LOPES, 1996). O controle das nematodeoses com fitoterápicos reduzirá o uso de anti-helmínticos convencionais, e também prolongará a sua vida útil. Os métodos *in vitro* para validação científica de plantas são econômicos, pois com poucos animais e pequena quantidade do extrato é possível avaliar o efeito de muitas plantas e suas várias concentrações (IQBAL et al., 2004), sobre a eclosão dos ovos e desenvolvimento larvar de nematóides (BIZIMENYERA et al., 2006). O uso do sisal na obtenção de antiparasitários poderá ser uma alternativa de diversificação do setor agropecuário. Este estudo objetivou avaliar o efeito do resíduo líquido da *A. sisalana* sobre nematóides gastrintestinais de ovinos utilizando os testes *in vitro* de eclosão de ovos e desenvolvimento larvar.

METODOLOGIA

Fezes de ovinos naturalmente infectados com nematóides gastrintestinais (95% *Haemonchus*), foram processadas conforme técnica de Coles et al. (1992), modificada por Bizimenyera et al. (2006), utilizando filtração sucessivas sobre malhas de 1mm, 105µm, 55µm e 25µm, com uso de água a 40°C para obtenção de ovos empregados nos testes *in vitro*. O teste de eclosão, realizado segundo Coles et al. (1992), modificado por Chagas et al. (2008), utilizou microplacas de 24 poços, onde foram distribuídos 27µL da suspensão de ovos (aproximadamente 100 ovos), 71 µL do meio nutritivo e 102

μL de água destilada poço. Nos poços do grupo testes foram adicionados 200 μL do resíduo líquido da *A. sisalana*, para obtenção das concentrações de 1,88; 3,75; 7,5; 15 e 30mg/mL. Os controles foram albendazole (0,9mg/mL) e água destilada. Três repetições foram feitas por concentração ou controle e o delineamento experimental, repetido três vezes. Após incubação das placas em BOD a 24°C por 48 horas, adicionou-se lugol e a leitura foi feita sob microscopia. Para o teste de desenvolvimento larvar segundo (HUBERT & KERBOUEF, 1992), modificado por BIZIMENYERA et al., (2006), utilizou-se 30 μl da suspensão de ovos (aproximadamente 100 ovos), 170 μl de água destilada e 90 μl do meio nutritivo. Em seguida, as placas foram incubadas por 24 horas em B.O.D. (28°C e UR>80%). Após eclosão das L1, foi adicionado 290 μl do resíduo líquido para obtenção das concentrações de 0,007; 0,015; 0,03; 0,06; 0,12; 0,25; 0,5 e 1mg/mL no grupo teste. O controle foi a água destilada. Foram feitas quatro repetições por concentração ou controle e o delineamento experimental, repetido duas vezes. A microplaca foi reincubada em B.O.D. por mais seis dias, posteriormente, foi acrescentado o lugol e contadas as larvas L3. Os percentuais de inibição da eclosão de ovos e de desenvolvimento larvar foram avaliados por análise de variância e teste de TUKEY ($p<0,05$) e a concentrações efetivas 50% (CE50) e (CE95) determinadas pelo método de Probit.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os testes *in vitro* para avaliar a ação do resíduo líquido das folhas da *A. sisalana* sobre NGI demonstraram o seu potencial antiparasitário, sobre ovos e larvas de nematóides gastrintestinais de ovinos (Figura 1). O percentual de inibição da eclosão de ovos e de desenvolvimento larvar elevou-se significativamente ($p<0,05$) com o aumento da concentração do resíduo líquido da planta. No teste de eclosão de ovos (TEO) não foi observada diferenças significativas para as concentrações de 30 e 15mg/mL e albendazole (0,9mg/mL), e no teste de desenvolvimento larvar (TDL) inibições de 100% foram observadas com concentrações entre 0,06 a 1 mg/mL do resíduo líquido. A média do percentual de inibição foi de 4,16% e 13,18% para o controle com água destilada nos TEO e TDL, respectivamente. Domingues (2008) relatou que resíduo líquido do sisal, na concentração de 86,5mg/mL, testado em coprocultura inibiu 95% do desenvolvimento larvar de nematóides gastrintestinais de caprinos.

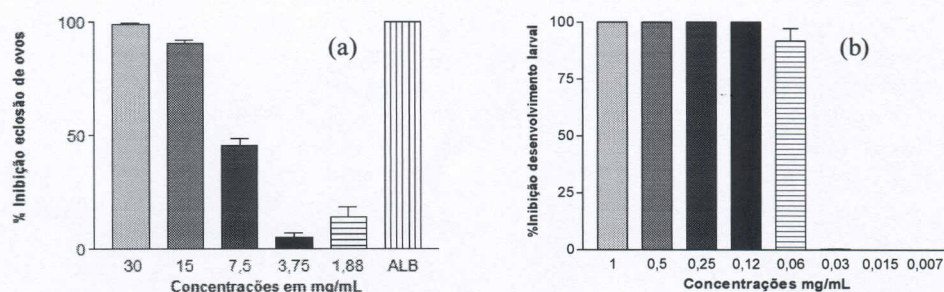


Figura 1. Inibição da eclosão de ovos (a) e do desenvolvimento de larvas (b) de nematóides gastrintestinais (95% *Haemonchus contortus*) de ovinos, com o uso do suco de *Agave sisalana*, em diferentes concentrações.

No presente trabalho, os compostos ativos do sisal foram mais efetivos sobre as larvas, uma vez que as concentrações usadas para o TDL foram expressivamente menores em relação a TEO. A necessidade de maiores concentrações do resíduo líquido para inibir o desenvolvimento do embrião pode estar relacionada à menor permeabilidade da membrana dos ovos e à passagem das substâncias presentes no resíduo líquido, visto que nas larvas L1 a absorção transcúticular é mais rápida (CAMURÇA-VASCONCELOS et al., 2005), por serem revestidas com uma única bainha.

As concentrações efetivas 50 e 95 % (CE50 e CE95) para inibição da eclosão de ovos foram, respectivamente, 6,78 e 23,06 mg/mL do resíduo líquido do sisal, mas para o TDL, não foi possível determinar devido a variações expressivas entre as concentrações. A eficácia observada para o resíduo neste estudo, pode estar associada a composição química do mesmo, que segundo Pizarro et al., (1999), apresenta vários compostos orgânicos, destacando-se as saponinas (triterpeno ou esteróide) relacionadas às atividades biológicas, como o efeito inseticida sobre *Culex*

quinquefasciatus (PIZARRO et al., 1999) e molusquicida para ovos de *Biomphalaria havanensis* (GARCES & LOPES, 1996).

Conclui-se que o resíduo líquido da folha da *A. sisalana* influencia o desenvolvimento de nematóides gastrintestinais de ovinos e pode ser explorado como fonte alternativa de produtos naturais no controle de parasitos. Apesar das plantas da família *Agavaceae* terem potencial nutracêuticos para estudos em ovinos, os mecanismos de ação dos compostos do resíduo líquido de sisal devem ser investigados para utilização como fitoterápico.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pela bolsa de mestrado e auxílios concedidos.

REFERÊNCIAS

BIZIMENYERA, E.S.; GITHIORI, J.B.; ELOFF, J.N.; SWAN, G.E. *In vitro* activity of *Peltophorum africanum* Sond. (Fabaceae) extracts on the egg hatching and larval development of the parasitic nematode *Trichostrongylus columbriformis*. **Veterinary Parasitology**, v. 142, p. 336-343, 2006.

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 Plantas Medicinais**, v. 7, p. 97-106, 2005.

CHAGAS, A. C. S.; OLIVEIRA, M. C.S.; Carvalho, C.O.; Georgetti, C.S.; Schiavone, D ; Ferrezini, J. ; Freitas, A.R. Otimização da eclodibilidade de larvar no egg hatch test. In: Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2008, Curitiba. **Anais...**, Curitiba: 2008, v. 15, p. 215.

COLES, G.C.; BAUER, C.; BORGSTEEDE, F.H.M.; GEERTS, S.; KLEI, T.R.; TAYLOR, M.A.; WALLER, P.J. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. **Veterinary Parasitology**, v. 44, p. 35-44, 1992.

DOMINGUES, L.F. **Avaliação da atividade anti-helmíntica do resíduo líquido de *Agave sisalana* Per. (sisal) em caprinos**. Salvador, Bahia, 2008, 68p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal nos Trópicos) – Escola de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Bahia, 2008.

GARCES, R.L.; LOPEZ, J.R.F. Efecto de las dosis letales de plantas de la familia Agavaceae sobre la actividad cardíaca y La oviposición de *Biomphalaria havanensis* (Mollusca: Planorbidae). **Revista Cubana de Medicina Tropical**, v. 48, p. 15-20, 1996.

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

IQBAL, Z.; LATEEF, M.; ASHRAF, M.; JABBAR, A. Anthelmintic activity of *Artemisia brevifolia* in sheep. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 93, p. 265-268, 2004.

PIZARRO, A.P.B.; OLIVEIRA FILHO, A.M.; PARENTE, J.P.; MELO, M.T.V.; SANTOS, C.E.; LIMA, P.R. O aproveitamento do resíduo da indústria do sisal no controle de larvas de mosquitos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 32, p. 23-29, 1999.