

AÇÃO DO EXTRATO HIDRO ALCOÓLICO DE *Ilex paraguariensis* SOBRE O DESENVOLVIMENTO LARVÁRIO DE PARASITAS DE OVINOS DA ORDEM STRONGYLIDA

Luiz Antônio Petry Filho¹
Alessandra Godeski²
Daniela Pedrassani³

RESUMO

O rebanho ovino em Santa Catarina, estimado em 300 mil cabeças, está presente principalmente nas pequenas propriedades de agricultura familiar, devido ao seu fácil manejo e adaptabilidade. O principal problema sanitário enfrentado pelos criadores é a verminose, que afeta grande parte dos animais a campo, levando-os a reduzir o consumo de alimentos, prejudica a digestão e a absorção dos nutrientes, afeta a eficiência reprodutiva e conseqüentemente a produtividade geral do rebanho. A verminose gastrintestinal pode ser controlada com um manejo adequado e coma administração periódica de anti-helmínticos conforme orientações do médico veterinário. Entretanto, o manejo inadequado e o uso constante de antiparasitários tem favorecido o aparecimento de resistência nos parasitas de ovinos, de modo que em algumas propriedades nenhum princípio ativo disponível tem a eficácia desejada. Na busca por produtos com efeito anti-helmíntico, os fitoterápicos vêm sendo largamente estudados. A erva-mate (*Ilex paraguariensis*) é uma planta abundante e nativa no Planalto Norte Catarinense e suas propriedades medicinais tem sido alvo de estudos, inclusive a possibilidade de efeito anti-helmíntico. Assim, este trabalho teve o objetivo de avaliar o possível efeito anti-helmíntico do extrato hidroalcoólico de *Ilex paraguariensis* no desenvolvimento larvário de estrongilídeos parasitas de ovinos. Com isso, foi preparado um extrato hidroalcoólico de *I. paraguariensis*, que foi avaliado pelo teste de eclodibilidade de ovos *in vitro* (TEO) nas concentrações de 5%, 10%, 20% e 40%. Como controle negativo utilizou-se água destilada e como controle positivo o sulfóxido de albendazole. Na análise fitoquímica foram detectados compostos que tem ação antiparasitária, como compostos fenólicos, saponinas, taninos e metilxantinas. No TEO depois de 24 e 48 horas de exposição dos ovos a dose mais alta do extrato (40%) foi visualizado a presença de 1% ovos blastomerados, 95% de ovos larvados e 4% de larvas. No controle positivo 100% não larvaram e no controle negativo 91% larvaram. Com base nos resultados observados, conclui-se que o extrato hidroalcoólico de *I. paraguariensis* não demonstrou efeito inibitório na evolução larval em ovos de parasitas da Ordem Strongylida procedentes de ovinos naturalmente parasitados.

Palavras-Chave: Resistência. Fitoterapia. Erva-mate. Pequeno ruminante.

ABSTRACT

The sheep herd in Santa Catarina, estimated in 300,000 heads, is present mainly in small family farms because of its easy handling and adaptability. The main sanitary problem faced by breeders is verminosis, which affects most of the animals in the field, leading to reduced food consumption, impairs digestion and nutrient absorption, affects reproductive efficiency and consequently overall herd productivity. Gastro-intestinal verminosis can be controlled with appropriate management and with periodic administration of anthelmintics according to the veterinarian prescription. However, inadequate management and constant use of antihelmintics have favored the appearance of resistance in sheep parasites, so that in some properties no available active ingredient has the desired efficacy. In the search for products with anthelmintic effect, phytotherapeutics have been widely studied. Maté herb (*Ilex paraguariensis*) is an abundant and native plant in the

1. Acadêmico do curso de Medicina Veterinária, Universidade do Contestado – UnC. Bolsista do Programa de Bolsas universitárias de Santa Catarina – UNIEDU / FUMDES. luiz.petryfilho@gmail.com

2. Acadêmica do curso de Medicina Veterinária, UnC. Bolsista do Programa de Bolsas Universitárias de Santa Catarina – UNIEDU/ FUMDES. alessandragodeski1@gmail.com

3. Dra em Medicina Veterinária, orientadora. UnC. Programa de Mestrado em Desenvolvimento Regional, Canoinhas-SC. daniela@unc.br

Catarinense Northern Plateau and its medicinal properties have been studied, including the possibility of anthelmintic effect. Thus, this work had the objective of evaluating the possible anthelmintic effect of *Ilex paraguariensis* hydroalcoholic extract on the sheep strongylid parasite larval development. For that, a hydroalcoholic extract of *I. paraguariensis* was prepared, which the in vitro Egg Hatch Assay – EHA at concentrations of 5%, 10%, 20% and 40%, evaluated. As a negative control it was used distilled water and as a positive control albendazole sulfoxide. In the phytochemical analysis were detected compounds that have anti parasite action, such as phenolic compounds, saponins, tannins and methylxanthines. In the EHA, after 24 of eggs exposure to the highest dosis of the extract (40%), the presence of only 1% of blastomere eggs, 95% of larval eggs and 4% of larvae, respectively, were visualized. In the positive control 100% larva did not occur and in the negative control 100% occurred larva. Based on the observed results, it was concluded that the hydroalcoholic extract of *I. paraguariensis* did not demonstrate an inhibitory effect on larval evolution in eggs of Strongylida Order parasites from naturally parasitized sheep.

Keywords: Resistance. Phytotherapy. Maté herb. Small ruminant.

1 INTRODUÇÃO

Com o crescimento do rebanho ovino de Santa Catarina, que vem ultrapassando 300 mil cabeças, é de extrema importância que se melhore os índices de produção, permitindo aos animais a expressão do máximo potencial genético.

O parasitismo afeta grande parte dos animais a campo, reduzindo o consumo de alimentos, prejudicando a digestão e a absorção dos nutrientes, reduzindo a eficiência reprodutiva e consequentemente a produtividade geral do rebanho.

Como os ovinos podem ser parasitados simultaneamente por diferentes nematódeos, quando não controlada a parasitose é a responsável por altas taxas de mortalidade (AMARANTE, 2014). O clima subtropical úmido em Santa Catarina proporciona maior desenvolvimento parasitário, sendo possível constatar infecções parasitárias acentuadas. Na tentativa de minimizar a carga parasitária os produtores fazem o uso de anti-helmínticos, muitas vezes de forma indiscriminada o que favorece a seleção de espécies de nematódeos resistentes.

A situação é delicada quando se trata de resistência anti-helmíntica, sendo que o controle químico muitas vezes não tem total eficácia, essa comprovada com os achados sintomatológicos e identificação de cepas resistentes (BATISTA *et al.*, 2016). O grupo das aminoacetônitrilas chegou no Brasil como uma solução para rebanhos que apresentassem larvas em estágio de hipobiose e multirresistência, principalmente em casos de hemoncose, mais como comprovado por Scott *et al.* (2013) este já vem apresentando ineficácia. A resistência pode limitar e até inviabilizar a criação de ovinos por aumentar o custo e por reduzir a eficiência da produção (MACEDO *et al.*, 2010).

Com a crescente detecção de resistência aos anti-helmínticos, novas áreas de pesquisa estão sendo exploradas, como por exemplo a fitoterapia. Nos países em desenvolvimento é crescente o uso da fitoterapia, e isto tem estimulado a realização de diversos estudos a fim de investigar o efeito anti-helmíntico de vegetais e sugerir-los como alternativa para auxiliar no controle das parasitoses em ovinos (FERREIRA *et al.*, 2013). A validação científica dos

fitoterápicos é uma etapa inicial obrigatória para a utilização correta de plantas medicinais ou de seus compostos ativos. Os testes *in vitro* permitem uma avaliação da existência de propriedades anti-helmínticas nos extratos vegetais, constituindo, desta maneira, uma etapa preliminar à caracterização dos possíveis compostos ativos presentes nos vegetais (COSTA *et al.*, 2002). Compostos fitoterápicos, por possuírem como matéria-prima os vegetais, proporcionam produtos (carne e leite) sem a presença de quaisquer resíduos químicos e por conta disto não necessitam de período de carência.

Uma planta regional, cujas propriedades vêm sendo estudadas é a erva-mate (*Ilex paraguariensis*). Esta planta é explorada economicamente em cerca de 110 mil propriedades rurais sendo a maioria familiares, abrangendo 558 municípios dos estados do PR, SC, RS e MS e ainda 725 empresas, envolvendo de forma direta cerca de 500 mil trabalhadores (IBGE, 2012).

A erva-mate apresenta uma ampla utilização popular sendo indicada como medicinal sob a forma de cataplasma, no tratamento caseiro de feridas e úlceras, em pasta ou compressa. Atualmente diversos autores tem avaliado esta planta e suas propriedades como conservante natural, corante natural, bactericida, na fabricação de cosméticos e pelo seu possível efeito anti-helmíntico (BONA *et al.*, 2010; BORGES; BORGES, 2016). Em sua composição fitoquímica já foram detectados compostos flavonóides, terpenóides, metilxantinas, saponinas, taninos, carotenóides, aminoácidos, ácidos graxos, carboidratos, proteínas, glicídios, vitaminas e minerais (OLIVEIRA *et al.*, 2014). Com concentração na planta que varia em função de fatores como, intensidade da luz, idade das folhas, componentes do solo, condições agrônômicas e fatores genéticos (JACQUES *et al.*, 2007).

Dentre os compostos ativos responsáveis pela ação terapêutica da *I. paraguariensis* pode-se mencionar os compostos fenólicos, as saponinas e as metilxantinas. As saponinas estão relacionadas à atividade anti-inflamatória, antifúngica, antibacteriana e antiparasitária (SPARG *et al.*, 2004) e as metilxantinas, que tem como principal representante a cafeína, estão relacionadas com a ação antimicrobiana (BITTENCOURT JUNIOR *et al.*, 2012).

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 PREPARO DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE ERVA-MATE

Para a obtenção do extrato hidro alcoólico de erva-mate, foi utilizada a metodologia descrita por Lagos *et al.* (2001). As folhas de erva-mate, foram coletadas de plantas em uma propriedade no interior de Mafra/ SC, sendo utilizadas apenas as de aspecto sadio e sem presença de fungos ou sujidades. Após a separação do galho da folha, pesou-se em balança de precisão (BEL®) as folhas, que em seguida foram secas em estufa a 65° C, com ventilação de ar por aproximadamente 10 horas, até que se obtivesse um teor padrão de umidade de aproximadamente 20%.

O material seco foi moído em moinho do tipo *Willey* até obtenção de pó, que foi peneirado em tamis de malha 1,5mm. O pó foi diluído em solvente hidro alcoólico na proporção de 5 g de pó/100 mL de álcool 70% e mantido em temperatura ambiente e protegido da luz por 25 dias. A solução foi filtrada e a seguir mantida em banho-maria a 50° C até a evaporação de todo o solvente. O resíduo final resultou no “extrato hidro alcoólico de erva-mate”.

2.2 ANÁLISE FITOQUÍMICA

A marcha fitoquímica qualitativa foi realizada conforme Matos (1997) para a presença de metabólitos secundários (fenóis, taninos, leucoantocianidinas, flavonas, flavonóis, flavanonas, flavanonóis, xantonas, catequinas, esteroides, triterpenoides, saponinas e resinas). A dosagem de fenóis totais (FT) foi realizada pelo teste de Folin-Ciocalteu, seguindo a metodologia baseada na interação direta entre polifenóis com o reagente sal de diazônio *Fast Blue* BB (sais de diazônio são sensíveis à luz e se decompõe sob luz violeta ou na proximidade de ultravioleta (UV)). A determinação dos teores de metilxantinas foi conforme descrito por Shubert *et al.* (2006) com adaptações e foi por método espectrofotométrico (UV), em comprimento de onda de 273 nm, utilizando-se a cafeína como padrão.

A toxicidade do extrato foi avaliada pelo teste de letalidade frente a *Artemia salina* Leach com critério de toxicidade do extrato, sendo valores $>1000 \mu\text{g/mL}$ (não tóxicos), $\geq 500 \leq 1000 \mu\text{g/mL}$ (fracamente tóxico) e $< 500 \mu\text{g/mL}$ (tóxicos) (MEYER et al., 1982). O ensaio antioxidante foi realizado pelo método de redução do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) pela metodologia de Blois (1958) com leitura mensurada em espectrofotômetro a 515nm.

2.3 COLETA DE FEZES

As fezes dos ovinos foram coletadas em uma propriedade de Canoinhas/ SC, logo após a defecação e acondicionadas em saco plástico e transportadas em caixa isotérmica imediatamente ao Laboratório de Parasitologia Veterinária da UnC, Campus de Canoinhas. Foram avaliados ovos da ordem Strongylida, identificados pelos seus caracteres morfológicos. O número de ovos por grama de fezes (OPG) foi determinado pelo método de Gordon e Whitlock modificado (1939). Fezes de animais com OPG superior a 1000 foram utilizadas no experimento, seguindo o protocolo de recuperação de ovos de nematoides gastrintestinais descrito por Coles *et al.*, (1992) modificado por Bizimenyra *et al.* (2006) no qual foram obtidas alíquotas de 25 μL do conteúdo com aproximadamente 100 ovos, para uso imediato.

2.4 TESTE DE ECLODIBILIDADE DE OVOS (TEO)

O extrato hidro alcoólico foi avaliado nas concentrações de 5%,10%, 20% e 40% pelo teste de eclodibilidade de ovos. A água destilada foi utilizada como controle negativo e o Sulfóxido de Albendazol (800 $\mu\text{g/mL}$ / Ricofarm ®) foi utilizado como controle positivo. Para cada tratamento (concentração) e para os controles, seis repetições foram avaliadas. O material foi testado em placas de poliestireno com 24 poços que foram mantidas em câmara climatizada (BOD) a 25°C com umidade relativa $>80\%$ por 24 e 48 horas.

A avaliação foi realizada em microscopia óptica (aumento de 100x) classificando os estágios presentes em ovos blastomerados, ovos larvados e larvas eclodidas.

2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram expressos em porcentagem observando o desenvolvimento dos ovos em: ovo blastomerado (OB), ovo com embrião deformado (OED), ovo larvado (OL), larva com motilidade (LCM), larva sem motilidade (LSM).

A eficiência (E) para o TEO por poço foi calculada de acordo a fórmula:

$$E\%TEO = \frac{\text{Número de larvas eclodidas}}{\text{Número de larvas eclodidas} + \text{Números de ovos}}$$

O percentual de eficiência entre as concentrações do extrato e entre os tempos foi avaliado por análise de variância seguido de teste de Tukey. Foram consideradas significativas as diferenças entre as médias quando $p \leq 0,05$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Na análise fitoquímica (Tabela 1), foram detectados presença de taninos condensados, catequinas, esteróides, triterpenóides, saponinas e resinas. Sendo estes compostos identificados anteriormente por outros autores; saponinas (GOSMANN et al. 1995), taninos (FILIP et al., 2001a). Taninos condensados são comumente encontrados em forrageiras tropicais e estão relacionadas com ações anti-helmínticas (HOSTE; SOTIRAKI; TORRES – ACOSTA, 2011). Taninos também possuem efeito anti-helmíntico pronunciado, principalmente por diminuir a taxa metabólica do parasito, reduzindo a disponibilidade de nutrientes (BRUNET; HOSTE, 2006).

Tabela 1 - Compostos secundários do extrato hidro alcoólico de *Ilex paraguariensis*.

Compostos	Presença
Taninos condensados	+
Catequinas	+
Flavonas	-
Flavonóis	-
Flavanonas	-
Leucoantocianidinas	-
Flavanonóis	-
Xantonas	-

Esteroides	+
Tripertenóides	+
Saponinas	+
Resinas	+

O teor de compostos fenólicos totais foi de $98,2 \pm 1,449 \mu\text{g/L}$ em equivalência ao padrão ácido gálico. Filip et al. (2001a), após realizarem testes com erva-mate também observaram presença de compostos fenólicos e flavonóides em sete espécies sul-americanas de *Ilex* e avaliaram maior teor na espécie *Ilex paraguariensis* quando comparados às demais.

Os teores de metilxantinas no extrato foram de 19,40 mg/g confirmados após análise, sendo expressos por miligramas de cafeína por grama de erva-mate (mg/g). Filip et al. (1998b) relataram que a cafeína é a principal xantina encontrada, seguida da teobromina e em quantidades muito pequenas a teofilina.

No teste de toxicidade frente a *Artemia salina* nas concentrações variando de 8000 até $31,75 \mu\text{g/mL}$, o extrato apresentou DL50 de $1.388 \mu\text{g/mL}$. No ensaio antioxidante foi demonstrado que $640 \mu\text{g/mL}$ possuindo 64,33% da atividade antioxidante ao padrão ácido ascórbico, o qual apresentou resultado não tóxico. Para testes *in vivo* de fitoterápicos, são desejáveis altos teores de antioxidantes pela defesa direta do organismo, danos oxidativos e pela melhoria do estado imunológico do animal (YUAN et al. 2009). Da Silva et al. 2008, demonstraram que a erva-mate apresenta alta capacidade antioxidante.

No teste de eclodibilidade de ovos, tanto em 24 (Gráfico 1), quanto em 48 horas (Gráfico 2), não se obteve eficácia do extrato em inibir o desenvolvimento de ovos da Ordem Strongylida parasitas de ovinos. Foi observado, grande número de larvas nas concentrações testadas de 5 a 40%, com percentual de eclodibilidade média de 2% (entretanto quase todos os ovos já estavam larvados) depois de 24 horas e 91% depois de 48 horas. Os controles positivos em 24 e 48 horas apresentaram 100% de ovos blastomerados, no controle negativo nas primeiras 24 horas superou 80% de

ovos larvados e após a leitura das 48 horas foi possível verificar acima de 90% de larvas vivas.

O controle positivo apresentou após as 24 e 48 horas resultados onde não houveram diferenças entre os tempos, onde foi possível constatar ovos blastomerados. O controle negativo apresentou após o mesmo tempo transcorrido, resultados onde não houveram diferenças entre os tempos, onde apresentou ovos larvados e larvas. As concentrações do extrato estudadas apresentaram o desenvolvimento larvário, em todas as concentrações. Então quando comparado com o grupo controle positivo, foi definido que o extrato de erva – mate é ineficaz (Tabela 2).

Tabela 2 – Percentual de eficiência do extrato hidro alcoólico de erva-mate em teste de TEO (ovos da ordem Strongylida) e de acordo com o tempo de exposição ao extrato

	O _{24hrs}	OL/L _{24hrs}	O _{48hrs}	OL/L _{48hrs}
Controle Positivo	100A ^b	0B ^b	100A ^b	0B ^b
Controle Negativo	0A ^a	100B ^b	0A ^a	100B ^a
Extrato 5%	1A ^a	99B ^a	0A ^a	100B ^a
Extrato 10%	0A ^a	100B ^a	0A ^a	100B ^a
Extrato 20%	0A ^a	100B ^a	0A ^a	100B ^a
Extrato 40%	0A ^a	100B ^a	0A ^a	100B ^a

Valores seguidos de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \geq 0,05$)

Na tabela 2, as letras maiúsculas equivalem a relação de comparação entre os dados das linhas, já as letras minúsculas representam a comparação entre as colunas.

Gráfico 1- Resultado do TEO em ovos da Ordem Strongylida expostos por 24 horas ao extrato hidro alcoólico de erva-mate.

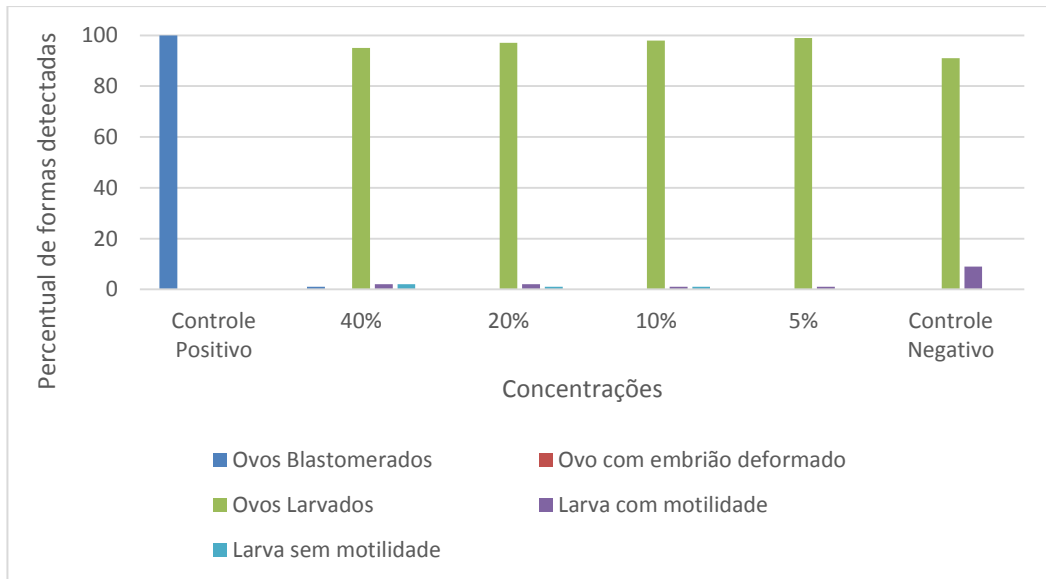
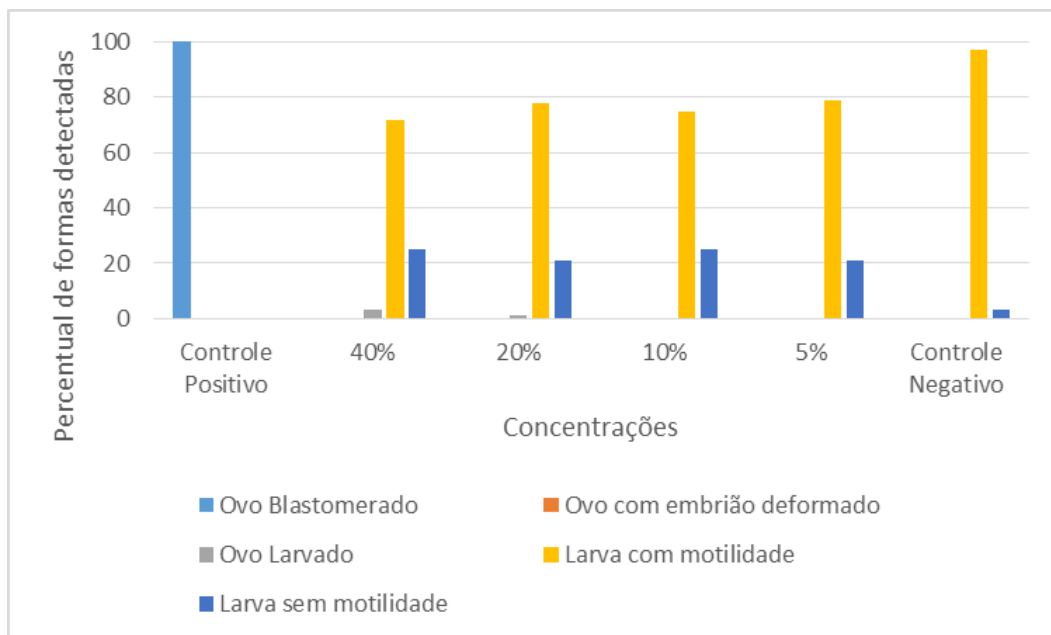


Gráfico 2- Resultado do TEO em ovos da Ordem Strongylida expostos por 48 horas ao extrato hidroalcoólico de erva - mate.



4 CONCLUSÃO

Conclui-se que o extrato hidro alcoólico de *Ilex paraguariensis* produzido não foi eficaz na inibição do desenvolvimento larval de ovos da Ordem Strongylida provenientes de ovinos naturalmente parasitados.

REFERÊNCIAS

AMARANTE, A.F.T; RAGOZO, A.M. A.; SILVA, B. F.D. **Os parasitas de ovinos**. São Paulo: Unesp, 2014. 263 p.

BATISTA, E. K. F; NEVES, C. A.; MENDONÇA, I. L. Resistência anti-helmíntica em ovinos e caprinos–Uma revisão. **Revista Científica de Medicina Veterinária**, n. 27, jul 2016.

BITTENCOURT-JUNIOR, F. F. *et al.* ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DA *Ilex Paraguariensis*. **Interbio**, v.6, n.2, dez. 2012.

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

BLOIS M. S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. **Journal of Food and Nutrition Research**, v. 28, p. 435-442, jul. 2014.

BONA E. A. M. *et al.* Avaliação da atividade antimicrobiana de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) sobre sorovares de *Salmonella* spp. de origem avícola. **UNOPAR Científica. Ciências Biológica Saúde**, n. 12, p. 45-82, jul. 2010.

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, n. 20, p. 7481-7487, 2006.

COSTA, M. S. M.; BEVILAQUA C. M. L.; SOUZA M. M. C.; LEITE F. K. A. Efeito ovicida de extratos de sementes de *Mangifera indica* L. sobre *Haemonchus contortus*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, n. 11, p. 57-60, 2002.

Da Silva, E. L. *et al.* Acute ingestion of yerba mate infusion (*Ilex paraguariensis*) inhibits plasma and lipoprotein oxidation. **Food Research International**. v. 41, n. 10, p. 973-979, 2008.

FERREIRA, L. E. *et al.* In vitro anthelmintic activity of aqueous leaf extract of *Annona muricata* L. (Annonaceae) against *Haemonchus contortus* from sheep. **Experimental parasitology**, São Paulo. n. 134, p. 327, 2013.

FILIP, R. *et al.* Phenolic compounds in seven South American *Ilex* species. **Fitoterapia**. v. 72, n. 7, p. 774-778, 2001a.

FILIP, R. *et al.* Mate substitutes or adulterants: study of xanthine content. **Phytotherapy Research**. v. 12, n. 2, p. 129-131, 1998b.

GOSMANN, G. *et al.* Triterpenoids saponins from *Ilex paraguariensis*. **Journal of Natural Products**, v. 58, p. 438-441, 1995.

RIET-CORREA, C.B; SIMÕES, S.V.D; RIET-CORREA, F. Sistemas produtivos de caprinocultura leiteira no semiárido nordestino: controle integrado das parasitoses gastrointestinais visando contornar a resistência anti-helmíntica. Rio de Janeiro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 7, 4 maio 2011. Disponível em:
<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2013000700010>. Acesso em: 19 jun. 2017.

HOSTE, H; SOTIRAKI, S; TORRES-ACOSTA, J. F. Control of endoparasitic nematode infections in goats. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 27, n. 1, p. 163-173, 2011.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Produção da extração vegetal e da silvicultura, ano base 2012. v. 27. 2012. 15p.

JACQUES R. A. *et al.* Characterization of mate tea leaves extracts obtained from high-pressure CO₂ extraction. **Journal of Supercritical Fluids**; v. 40, p. 354–359, 2007.

LAGOS, J. B. *et al.* Determinação do Teor de Metilxantinas e análise da variabilidade genética de seis variedades populares de erva-mate. **Boletim de pesquisa e desenvolvimento**. Embrapa. Colombo, PR, 2001.

MACEDO, I. T. *et al.* Anthelmintic effect of *Eucalyptus staigeriana* essential oil against goat gastrointestinal nematodes. **Veterinary Parasitology** v.173, p. 93–98, 2010.

MEYER B. N. *et al.* Brineshrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta Médica**. v. 45, p. 31-34, 1982.

OLIVEIRA E. V. et al. Composição nutricional de procedências e progênes de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) cultivadas em latos solo vermelho distrófico. **Ciência Florestal**, Santa Maria. v. 24, n. 4, Oct./Dec. 2014.

SCOTT, I. et al. Lack of efficacy of monepantel against *Teladorsagia circumcincta* and *Trichostrongylus colubriformis*. **Veterinary Parasitology**, v.198, p.166–171, 2013.

SCHUBERT, A. et al. Variação anual de metilxantinas totais em amostras de *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. (erva-mate) em Ijuí e Santa Maria, Estado do Rio Grande do Sul. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1233-1236, 2006.

SPARG, S.G; LIGHT, M. E.; VAN STADEN, J. Biological activities and distribution of plant saponins. **Journal of ethnopharmacology**, v. 94, n.2, p. 219-243, 2004.

URQUHART, G. M. et al. **Parasitologia veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. 273 p.

YUAN, C. et al. Evaluation of antioxidant and immune activity of Phellinus ribis glucan in mice. **Food Chemistry**, v. 115, n. 2, p. 581-584, 2009.