

Efeito anti-helmíntico da folha do noni (*Morinda Citrifolia L.*) sobre *Ascaridia galli*

Anthelmintic effect of noni (*Morinda citrifolia L.*) leaf on *Ascaridia galli*

Danilo Rodrigues Barros BRITO^{1*}; Rozeverter Moreno FERNANDES²; Daniela Cristina Pereira LIMA²; Ronaldo Sousa SANTOS²; Maria Zenaide de Lima Chagas Moreno FERNANDES²; Bruno Leandro Maranhão DINIZ²

RESUMO

O efeito anti-helmíntico da folha da *Morinda citrifolia* (noni) sobre *Ascaridia galli* foi avaliado em aves poedeiras naturalmente infectadas. A atividade anti-helmíntica *in vitro* foi determinada em helmintos adultos colocados em placas de petri descartáveis, contendo solução Tyrode pré-aquecida, a qual foi adicionado o extrato aquoso e etanólico e mantidos numa BOD a uma temperatura de 37°C (± 1). Os extratos aquosos e etanólicos foram usados nas seguintes concentrações: 0,87; 1,74; 3,48; 6,96 e 13,92 mg.mL⁻¹ e 4,17; 8,34; 16,68; 33,36 e 66,72 mg.mL⁻¹, respectivamente. Como controle positivo usou-se uma solução de citrato de piperazina tetrahidratada na concentração de 50 mg.mL⁻¹. A atividade anti-helmíntica *in vivo* foi determinada em aves, administrando durante três dias consecutivos o extrato aquoso e etanólico (10 mL/kg). As fezes foram coletadas durante quatro dias por grupo, em seguida lavadas em água corrente e peneiradas. No quinto dia de tratamento, as aves foram sacrificadas e necropsiadas, para contagem e identificação dos helmintos remanescentes. Os dados obtidos foram analisados estatisticamente utilizando o teste de Student-Newman-Keuls. No teste *in vivo*, não houve diferença significativa entre o extrato aquoso (concentração de 10%) e o grupo controle (água) ($p > 0,05$) na eliminação do *A. galli*. O extrato etanólico apresentou um percentual de eliminação de 30,1%, diferindo estatisticamente do grupo controle ($p < 0,05$). Na concentração 13,92 mg.mL⁻¹, para o teste *in vitro*, o extrato aquoso apresentou percentagem de mortalidade de 96,67%, semelhante ao obtido pela piperazina (100%), diferindo estatisticamente do controle negativo ($p < 0,05$). Nas concentrações 33,36 e 66,72 mg.mL⁻¹, o extrato etanólico apresentou percentagem de mortalidade de 83,33 e 90%, respectivamente, havendo diferença estatisticamente significativa do controle negativo ($P < 0,05$). Conclui-se que a atividade anti-helmíntica da folha do noni apresentou no teste *in vitro* resultados expressivos, havendo necessidade de estudos com maiores concentrações no teste *in vivo*.

PALAVRAS-CHAVE: *Morinda citrifolia*; folha, atividade anti-helmíntica, *Ascaridia galli*.

ABSTRACT

The anthelmintic effect of *Morinda citrifolia* (noni) leaf on *Ascaridia galli* was evaluated in chicken naturally infected. The anthelmintic activity *in vitro* was determined in adults helminthes in disposable Petri dishes, containing Tyrode solution, pre warmed in which aqueous and ethanolic extracts were added. The stuff was maintained in a BOD at 37°C (± 1). The aqueous and ethanolic extracts presented the following concentrations: 0.87; 1.74; 3.48; 6.96 e 13.92 mg.mL⁻¹ e 4.17; 8.34; 16.68; 33.36 e 66.72 mg.mL⁻¹, respectively. As a positive control a solution of tetrahydrate citrate of piperazin in the concentration of 50 mg mL⁻¹ was used. The anthelmintic activity *in vivo* was determined by the administration of the aqueous and ethanolic extracts (10 mL/Kg) during three consecutive days. The feces were collected during four days in each group, washed in water

Endereço para Correspondência: ¹ Instituto Federal do Maranhão, Campus Maracanã, Av. dos Curiós S/N – Vila Esperança – São Luis- MA, CEP: 65.095-460 Cx. Postal 433; danilobrito@ifma.edu.br - ² Universidade Federal do Piauí, Centro de Ciências Agrárias

and sifted. In the fifth day of treatment, the chickens were euthanized and necropsy was performed in order to count and identify remaining the helminthes. The data were analyzed by the Student-Newman-Keuls test. In the *in vivo* test there was no significative difference between the aqueous extract and the control group (water) ($p > 0.05$) in the elimination of *A. galli*. The ethanolic extract presented an elimination of 30.1%, differing stastically from the control group ($p < 0.05$). In the concentration of 13.92 mg.mL^{-1} , for the *in vitro* test, the aqueous extract presented a mortality of 96.67%, almost the same obtained by piperazin (100%), differing statistically from form the negative control ($p < 0.05$). In the concentrations of 33.36 and 66.72 mg.mL^{-1} , the ethanolic extract showed a mortality of 83.33 and 90%, respectively, there was a significative statistical difference from the negative control ($p < 0,05$). It follows that the anthelmintic activity noni leaf of the test showed expressive results *in vitro*, there is a need for studies in higher concentrations in the test *in vivo*.

KEY WORDS: *Morinda citrifolia*, leaf; anthelmintic activity, *Ascaridia galli*.

INTRODUÇÃO

O gênero *Morinda* (Rubiaceae) inclui aproximadamente 80 espécies, das quais pelo menos 20 espécies são reconhecidas. *Morinda citrifolia* é suprema em características medicinais, de uso e distribuição variada (Morton, 1992). Normalmente conhecida por “noni”, é uma pequena árvore originária do Sudoeste da Ásia, tendo sido difundida pelo homem através da Índia e do Oceano Pacífico até as ilhas da Polinésia Francesa, onde se situa o Taiti (Nelson, 2003).

Cresce tanto em florestas, como em terrenos rochosos ou arenosos. É tolerante a solos salinos e certas condições de seca. É encontrada numa grande variedade de habitat: terrenos vulcânicos ou mesmo em terra calcária. Pode crescer até 9m de altura, tem folhas largas, simples, verde escuro, com veias vincadas. As flores são pequenas e brancas (McClatchey, 2002; Wang et al., 2002).

Segundo Fahs (2002), a atividade antiparasiticida é esperada na planta noni, a qual possui o poder de matar ou expelir o parasito. O extrato alcoólico de folhas tenras mostrou atividade anti-helmíntica *in vitro* contra *Ascaris lumbricoides* humano (Kaleysa Raj, 1975).

Um dos princípios ativos da *M. citrifolia* é

um alcalóide conhecido como xeronine, sendo útil na medicina, alimentação e em campos industriais.

As plantas medicinais são importantes por fornecerem matéria-prima para a síntese de drogas, além de serem utilizadas como agentes terapêuticos. O emprego das plantas é supervalorizado no uso tradicional com base nos seus benefícios medicinais. Dessa forma, torna-se imprescindível o conhecimento sobre a dose e a parte empregada da planta, além de suas propriedades terapêuticas, pois existem plantas que são altamente tóxicas, mesmo em pequenas doses (Zhan & Zhou, 2003). Assim, a fitoterapia pode contribuir para aumentar a produtividade, uma vez que reduz o uso de anti-helmínticos convencionais, além de estender a vida útil dos produtos químicos disponíveis (Vieira et al., 1999).

A ascariidose é causada por um nematóide (*Ascaridia galli*) de corpo cilíndrico que mede entre 3 a 12 cm. Camas de aviários usadas na produção local são ideais ao desenvolvimento dos ovos de *A. galli*. Aves jovens são mais susceptíveis do que as adultas e os vermes adultos podem causar obstrução intestinal e morte (Freitas, 1977).

Frequentemente, infecções massivas por parasitas têm sido observadas em produções

orgânicas ou Colonial/Caipira se comparada com aves produzidas em gaiolas. Em estudo realizado na Dinamarca, a prevalência de *A. galli* foi de 100% em frangos criados no sistema Colonial/Caipira e orgânico, enquanto que para o sistema industrial foi de 25%. O contato com áreas de chão/terra pode ter proporcionado esta alta prevalência, ocasionando provavelmente a mortalidade das aves (Permin et al., 2002). Esses resultados confirmam o risco de infecção mais acentuada no sistema em campo.

O uso inadequado de vermífugos e carrapaticidas faz com que o problema dos resíduos se acentue, alarmando a sociedade consumidora. É desta forma que os produtos orgânicos têm conquistado espaço na agropecuária, indicando uma forma de uso, isolada ou associada, de substâncias naturais, que geram produtos com menos resíduos e mais valorizados no mercado (Chagas, 2004). Dessa forma, as plantas consideradas na medicina popular como anti-helmíntica oferecem uma alternativa de tratamento para as criações orgânicas, em que o uso de quimioterápicos é restrito. Pressupõe-se, o parasitismo por *A. galli* pode ser controlado com manejo em criações intensivas. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade anti-helmíntica da folha da *M. citrifolia* em aves poedeiras naturalmente infectadas por *A. galli*.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta do material vegetal: Folhas de *M. citrifolia* (Rubiaceae) foram coletadas no município de Altos, Estado do Piauí à latitude de 05° 02' 20" S, longitude de 42° 27' 39" O e a 187 m de altitude, no período seco do ano. O solo local é Podzólico Vermelho Amarelo Distrófico com baixa fertilidade natural (P 5 mg/dm³, K 14 mg/dm³, Al 6 mmol/dm³, e Ca+Mg 8 mmol/dm³) e alta acidez (pH-5,3). A precipitação média anual do município é em torno de 1.297 mm, sendo que cerca de 90% das chuvas se

concentram no período de novembro a maio. A temperatura média anual está em torno de 25°C e umidade relativa de 67%. Está situado a 42 km ao nordeste da cidade de Teresina-PI.

A identificação botânica foi realizada no Núcleo de Referência em Ciências Ambientais do Trópico Ecotonal do Nordeste - TROPEN, Teresina-PI, sendo a exsicata depositada sob o número 21644 no herbário Graziela Barroso.

As folhas foram picadas, dessecadas em uma estufa de circulação forçada de ar durante cinco dias a uma temperatura máxima de 45°C (± 1). Após esta etapa, o material foi triturado em moinho tipo willey, utilizado para moagem de pequenos volumes de plantas, folhas, sementes, raízes, farináceos e vegetais, obtendo-se um pó que foi acondicionado em um frasco de vidro âmbar hermeticamente fechado e identificado, onde permaneceu até o momento do preparo dos extratos.

Preparação dos extratos: O extrato etanólico foi obtido através de maceração a frio após quatro extrações sucessivas, ou seja, foi adicionado etanol em um recipiente de vidro até cobrir todo o material vegetal. A maceração foi realizada por um período de 96 horas com intervalos de 24 horas, sendo o extrato filtrado usando papel de filtro Whatman nº 1 foi concentrado em evaporador rotativo sob pressão reduzida, à temperatura não superior a 45°C e, então, liofilizado. O extrato aquoso foi obtido através de cocção, ou seja, 50 g de matéria vegetal (pó) para 500 mL de água destilada, em seguida deixou-se ferver por dois minutos e após o resfriamento à temperatura ambiente a solução obtida foi filtrada através de vácuo, obtendo-se então uma solução a 10%.

Determinação do peso seco: Foi retirado uma alíquota de 1 mL de cada extrato que foi transferida para frascos limpos e desengordurados, previamente pesados e identificados, os quais foram colocados na estufa

de circulação forçada de ar a uma temperatura máxima de 45°C (± 1) até a obtenção de um peso constante, procedimento realizado em triplicata. A massa média obtida referente a 1mL foi relacionada ao respectivo volume total, obtendo-se então a massa total em mg mL⁻¹. Este procedimento foi realizado para o extrato aquoso com o objetivo de determinar a massa seca do mesmo e para o extrato etanólico para avaliar o rendimento aproximado deste após a evaporação do etanol.

Manutenção das aves: Durante o experimento foram adquiridas em granjas da zona rural da cidade de Teresina-PI galinhas poedeiras (*Gallus domesticus*) em fase de descarte e que não recebiam vermífugos há pelo menos três meses. As aves foram colocadas em um galpão composto por uma área coberta com bebedouros e comedouros, além da cama de maravalha. Sobre o telhado foi colocada uma mangueira perfurada a laser (microfuros) que jogava água sobre a telha, mantendo assim o conforto térmico dos animais, principalmente devido às altas temperaturas alcançadas na cidade. Junto à área coberta, os animais tiveram acesso a uma área descoberta e de chão batido que sempre estava capinada, evitando que os animais tivessem acesso a outras plantas. Para determinar o grau de infecção do plantel, foram realizados exames de fezes, através da técnica Willis ligeiramente modificada (Willis apud Ueno, 1994).

Atividade anti-helmíntica *in vitro*: Foi determinada em helmintos adultos de *A. galli* coletados a partir do intestino delgado de aves necropsiadas. A identificação de *A. galli* foi realizada por suas características macroscópicas e com o auxílio de estereomicroscopia. Os parasitos foram lavados em solução salina 0,9% e aqueles considerados ativos foram transferidos para placas de petri descartáveis (150 x 15mm), contendo solução Tyrode (Kaleysa Raj, 1975) pré-aquecida (37 °C) totalizando 10 nematóides

por placa. A seguir foram adicionados os extratos nas seguintes concentrações: 0,87; 1,74; 3,48; 6,96 e 13,92 mg.mL⁻¹ do extrato aquoso e 4,17; 8,34; 16,68; 33,36 e 66,72 mg mL⁻¹ do extrato etanólico. Os nematóides foram mantidos em estufa BOD a temperatura de 37° C (± 1) e examinados 6, 24, 48, 72 e 96 horas após o tratamento. Os nematóides imóveis, mesmo após breve pressão com estilete foram considerados mortos (Shilaskar & Parasar, 1989). O experimento foi repetido 3 vezes para cada dose e a porcentagem de parasitas mortos em cada grupo foi calculada. Este teste foi acompanhado de dois controles negativos constituídos por água e diluente (Tween 80 a 17,5% acrescido de DMSO a 12,5%) e um controle com a droga referência, citrato de piperazina (50 mg.mL⁻¹), administrada de acordo com o fabricante (Proverme - Tortuga Companhia Zootécnica Agrária).

Atividade anti-helmíntica *in vivo*: Os grupos foram constituídos de um controle positivo (piperazina), dois negativos (água destilada e diluente (a mesma diluição usada na atividade *in vitro*) e dois grupos testes (extrato aquoso e etanólico), sendo compostos de seis animais cada grupo, com peso médio de 1,5 Kg. As aves foram transferidas individualmente para gaiolas galvanizadas com fundo removível para facilitar a coleta das fezes, onde passaram por um período de adaptação de 72 horas, recebendo diariamente 50g de ração e água *ad libitum*. Antes do início dos testes as aves foram submetidas a um período de jejum de 6 horas, tendo disponível água à vontade. Os extratos aquoso e etanólico foram administrados durante três dias consecutivos no volume de 10 mL/Kg, utilizando-se uma sonda intragástrica (Fernandes et al., 2005). As fezes foram coletadas durante quatro dias por grupo, em seguida foram levadas ao laboratório, lavadas em água corrente e peneiradas em tamis USBS-50, abertura 0,297 mm e tyler 48 sob outro

tamis de malha USBS-40, abertura 0,42 mm e tyler 35 colocado no fundo da pia, de modo a reter o resíduo que passasse pelo primeiro tamis. Posteriormente eram acondicionadas em frascos contendo uma solução AFA a quente (Ácido Acético, Formol e Álcool) (Amato et al., 1991) para conservação, visando à contagem dos helmintos eliminados. No quinto dia de tratamento, as aves foram eutanasiadas e necropsiadas (Resolução nº 714 de 20/06/2002 do CFMV). A mucosa do trato gastrointestinal foi raspada e o conteúdo colocado em frascos contendo AFA quente para posterior contagem e identificação dos helmintos remanescentes. O efeito do tratamento foi avaliado pelo método crítico controlado (Steward, 1955) adaptado ao nosso modelo experimental, e expressa em termos percentuais médios de eliminação de *A. galli*, conforme a fórmula abaixo:

$$\% \text{ ATV ANH} = \frac{\text{NTN PT}}{\text{NTN PT} + \text{NTN N}} \times 100$$

% ATV ANH = % Atividade Anti-Helmíntica; NTNPT = N° Total de Nematoides Pós Tratamento; NTN N = N° Total de Nematoides na Necropsia

Cálculo semelhante foi aplicado aos grupos controles negativos com o objetivo de avaliar a eliminação espontânea dos helmintos e para verificar se os diluentes não interferiram na atividade dos extratos.

Análise estatística: Os dados obtidos foram analisados estatisticamente utilizando o teste de Student-Newman-Keuls, com auxílio do programa InStat (Graphpad InStat: GraphPad Software Oberlin, San Diego – CA, USA). O nível de significância adotado foi $p < 0,05$ (Pimentel, 1987).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As folhas de *M. citrifolia* apresentaram no extrato etanólico um rendimento de 60 g na forma de pó depois do processo de liofilização. O pH do extrato aquoso da folha do noni foi de 5,18 e do etanólico 6,53. O peso seco obtido

no extrato aquoso da folha do noni foi 20,7 mg.mL⁻¹ e no extrato etanólico de 11,5 mg.mL⁻¹.

Após cálculos realizados com o peso seco, as concentrações dos extratos aquosos e etanólicos foram: 0,87; 1,74; 3,48; 6,96 e 13,92 mg mL⁻¹ e 4,17; 8,34; 16,68; 33,36 e 66,72 mg .mL⁻¹, respectivamente, considerando a ordem crescente das alíquotas dos extratos testes nas placas.

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, possibilitando a criação de novas alternativas para o controle das parasitoses (Costa et al., 2002).

A percentagem média de eficácia nos testes *in vitro* considerando a taxa de mortalidade dos parasitos adultos, usando diferentes concentrações do extrato aquoso da *M. citrifolia* e diferentes tempos de exposição do parasito ao extrato, está disposta na Tabela 1.

O extrato aquoso da folha do noni começou a apresentar efeito contra o *A. galli* a partir da 24^a hora para as concentrações de 6,96 e 13,92 mg.mL⁻¹, no entanto este efeito não foi significativo estatisticamente em relação ao controle negativo ($P > 0,05$). Porém, a partir da 72^a hora, as maiores concentrações 3,48; 6,96 e 13,92 mg.mL⁻¹, começam demonstrar diferença estatisticamente significativa, entre o extrato aquoso da folha do noni e o controle negativo (água), estendendo-se aos demais tempos de observação (Tabela 1).

A concentração do extrato parece ter interferido diretamente na obtenção desse resultado, pois diferenças na taxa de mortalidade somente foram observados com maior frequência nas últimas concentrações de maior valor do extrato aquoso da folha do noni. Observa-se que a taxa de mortalidade do extrato

Tabela 1- Percentual de eficácia (média ± desvio padrão) do extrato aquoso da folha de *Morinda citrifolia* sobre *Ascaridia galli* no teste *in vitro* ao longo de 96 horas de tratamento.

	Concentração (mg mL ⁻¹)	Tempo / (%) de mortalidade				
		6 ^a h	24 ^a h	48 ^a h	72 ^a h	96 ^a h
Extrato Aquoso do noni	0,87	0	0	0	16,67 ± 5,77 ^a	36,67 ± 5,77 ^a
	1,74	0	0	10 ± 0,00 ^a	36,67 ± 5,77 ^b	46,67 ± 5,77 ^a
	3,48	0	0	20 ± 10 ^a	46,67 ± 15,27 ^b	56,67 ± 15,27 ^a
	6,96	0	6,67 ± 5,77 ^a	46,67 ± 5,77 ^b	73,33 ± 5,77 ^c	83,33 ± 15,27 ^b
	13,92	0	3,33 ± 5,77 ^a	50 ± 10 ^b	86,67 ± 5,77 ^c	96,67 ± 5,77 ^b
Piperazina Água	50	0	0	0	50 ± 26,46 ^b	100 ± 0,00 ^b
	-	0	0	0,67 ± 0,00 ^a	5,35 ± 5,77 ^a	14 ± 5,77 ^c

Médias com letras iguais, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Student-Newman-Keuls (P<0,05).

aquoso na concentração de 13,92 mg.mL⁻¹ na 96^a hora (96,67%) é muito semelhante à taxa de mortalidade do controle positivo (piperazina) (100%) na mesma concentração e tempo de exposição, e que nas concentrações 6,96 e 13,92 mg.mL⁻¹ na 72^a hora, a taxa de mortalidade foi maior que o controle positivo.

Hadinoto & Hadisoewignyo (2003) também observaram maior mortalidade para o extrato aquoso do fruto da *M. citrifolia*, quando comparados com a piperazina. Eles avaliaram a atividade anti-helmíntica sobre o *A. galli* em várias concentrações (7, 9, 12, 16, e 21%) e verificaram no teste *in vitro*, um percentual de mortalidade do extrato aquoso do fruto do noni maior que a encontrada na piperazina, utilizada em diferentes concentrações (20, 25, 32, 40 e 50%).

Os resultados do teste *in vitro* do extrato etanólico do noni estão sumarizados na Tabela 2. O extrato etanólico nas concentrações 33,96 e 66,72 mg.mL⁻¹, apresentou diferença estatisticamente significativa em relação ao controle negativo (diluyente) em 72 e 96 horas de observação. Verifica-se que a taxa de mortalidade dos parasitos adultos de *A. galli* na concentração 8,34 mg mL⁻¹ na 24, 48 e 72^a hora foi inferior ao controle negativo. Entretanto, a taxa de mortalidade registrada para o extrato etanólico na 96^a hora na concentração de 66,72

mg.mL⁻¹ foi de 90%, sendo próximo da taxa de mortalidade do controle positivo (piperazina) que foi de 100%. Cordeiro et al. (2010) também verificaram uma expressiva atividade anti-helmíntica do extrato etanólico das folhas do melão-de-São-Caetano (*Momordica charantia* L.) sobre as larvas de nematóides gastrintestinais de caprinos, quando observaram que no teste de motilidade larval, a concentração de 50% do extrato apresentou 86,71% de larvas inviáveis.

Considerando a mortalidade acumulada entre 48 e 96 horas de tratamento, observa-se que o extrato aquoso apresentou um maior percentual de mortalidade do que o extrato etanólico (Tabela 3). Estes resultados sugerem que a substância responsável pela mortalidade dos parasitos esteja em maior concentração na fração aquosa. Semelhante resultado foi obtido por Fernandes et al. (2009), quando avaliaram o efeito anti-helmíntico dos extratos aquosos e etanólicos da *Annona squamosa* (fruta-do-conde) sobre o nematoide *A. galli*, observando que nas concentrações 2,4 e 9,6 mg.mL⁻¹ o extrato aquoso foi capaz de matar 63,33% e 53,33% dos nematóides, enquanto que o extrato etanólico não produziu efeito significativo.

Os dados da Tabela 4 mostram os percentuais de eliminação de *A. galli* em aves poedeiras naturalmente infectadas submetidas à administração de extrato aquoso e etanólico

Tabela 2- Percentual de eficácia (média ± desvio padrão) do extrato etanólico da folha de *Morinda citrifolia* sobre *Ascaridia galli* no teste *in vitro* ao longo de 96 horas de tratamento.

	Concentração (mg mL ⁻¹)	Tempo / (%) de mortalidade				
		6 ^a h	24 ^a h	48 ^a h	72 ^a h	96 ^a h
Extrato Aquoso do noni	4,17	0	0	0	3,33 ± 5,77 ^a	6,67 ± 5,77 ^a
	8,34	0	0	0	0	13,33 ± 5,77 ^{a b}
	16,68	0	0	0	3,33 ± 5,77 ^a	23,33 ± 5,77 ^b
	33,36	0	3,33 ± 5,77 ^a	13,33 ± 23,02 ^a	50 ± 34,64 ^b	83,33 ± 15,27 ^c
	66,72	0	0	30 ± 10 ^b	60 ± 20 ^b	90 ± 10 ^c
Piperazina	50	0	0	0	50 ± 26,46 ^b	100 ± 0,00 ^c
Água	-	0	0,67 ± 0,00 ^a	3,33 ± 5,77 ^a	6,67 ± 5,77 ^a	13,33 ± 5,77 ^{a b}

Médias com letras iguais, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Student-Newman-Keuls (P<0,05)

de *M. citrifolia*. Comparando estatisticamente os três tratamentos (água, extrato aquoso e piperazina), não houve diferença significativa entre o extrato aquoso e o grupo controle (água) (p>0,05), demonstrando a ineficiência do extrato aquoso da folha da *M. citrifolia* a 10% na eliminação do *A. galli*, diferindo dos resultados encontrados no teste *in vitro* quando se encontrou uma taxa de mortalidade de 96,76% na concentração de 13,92 mg mL⁻¹ na 96^a hora. Situação parecida foi verificada por Peneluc et al. (2009), quando pesquisando sobre a ação anti-helmíntica da *Zanthoxylum rhoifolium*, rutácea popularmente conhecida como mamica-de-porca, mamica-de-cadela, laranjeira-brava e espinho-cheiroso sobre nematóides de ovinos, verificaram uma redução de larvas de *Haemonchus*, *Trichostrongylus* e *Oesophagostomum* superior a 95% nas concentrações de 193,7 a 335,0 mg.mL⁻¹, no teste *in vitro*. Porém, quando avaliado *in vivo*, a redução de ovos por grama de fezes foi inferior a 57%, na dose de 0,63 g.Kg⁻¹ PV.

Houve diferença estatística significativa entre os tratamentos extrato etanólico, controle negativo (diluyente) e controle positivo (piperazina) (p<0,05), demonstrando 30,1% de eficiência do extrato etanólico da folha de *M. citrifolia* na eliminação do *A. galli*.

Considerando a eliminação do *A. galli* no

teste *in vivo*, verifica-se que o extrato etanólico (30,1%) apresentou um maior percentual de eliminação do que o extrato aquoso (3,7%). Estes resultados sugerem que o princípio ativo responsável pela mortalidade esteja na fração etanólica.

Fernandes et al. (2005), estudando a atividade anti-helmíntica do alho (*Allium sativum*), da romã (*Punica granatum*), do cipó-cravo (*Tynnanthus labiatus*) e do coco-da-baía (*Cocos nucifera*) em frangos de corte naturalmente infectados por *A. galli*, administrados por sonda ou incorporados à ração, em teste *in vivo*, observaram a ausência de atividade anti-helmíntica para todas as plantas testadas. Sobral et al. (2010), com o objetivo de analisar a eficácia anti-helmíntica *in vivo* do tubérculo da *Operculina hamiltonii* e sementes da *Curcubita pepo* L. sobre ovos e larvas de helmintos gastrintestinais de galinhas caipiras, verificaram também que nas doses de 0,5 g/kg e 2,0 g/kg de peso vivo (PV), respectivamente, não apresentaram ação ovicida e larvicida nos helmintos.

Estudos científicos sobre a atividade anti-helmíntica da *M. citrifolia* são escassos, entretanto, o conhecimento popular é lembrado em sites como o International Medicinal Plants Growers' Consortium, que cita o uso da folha da planta como anti-helmíntico.

Tabela 3- Percentual médio de eficácia do extrato aquoso e etanólico da folha de *Morinda citrifolia* sobre *Ascaridia galli* no teste *in vitro* entre 48 e 96 horas de tratamento.

Tempo	Tratamentos/(%) de mortalidade		
	Extrato Aquoso do noni (5,39 mg.mL ⁻¹)	Extrato Etanólico do noni (25,85 mg.mL ⁻¹)	Piperazina (50 mg.mL ⁻¹)
48 ^a h	25,33	9,33	0
72 ^a h	52	26,67	50
96 ^a h	64	43,33	100

Tabela 4- Atividade anti-helmíntica dos extratos aquosos e etanólico obtidos da folha de *Morinda citrifolia* na eliminação de *Ascaridia galli* em aves poedeiras (n=6) naturalmente infectadas.

Parte usada da <i>Morinda citrifolia</i>	Tratamentos	Número de helmintos		Eliminação (%)
		Exame fecal	Necropsia	
Folha	Aquoso*	02	52	3,70 ± 8,01 ^a
	Etanólico*	31	72	30,10 ± 28,12 ^b
	Água	01	50	1,96 ± 3,14 ^a
	Diluente**	02	53	3,64 ± 7,64 ^a
	Piperazina***	498	07	98,61 ± 3,80 ^c

Médias com letras iguais, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Student-Newman-Keuls (p<0,05); * Extratos aquosos e etanólico na concentração de 10%; ** (Tween 80 a 17,5% acrescido de DMSO a 12,5%); *** Dose de 50 mg.mL⁻¹.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste trabalho, considerando o teste *in vitro*, demonstraram tanto para extrato aquoso como para etanólico, uma atividade anti-helmíntica satisfatória nas duas maiores concentrações e no maior tempo de exposição. Porém, no teste *in vivo*, o extrato da folha (aquoso e etanólico) na concentração de 10%, demonstrou uma baixa eficiência frente ao *A. galli*, sendo necessários testes com concentrações mais elevadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMATO, J.F.R.; BOEGER, W.A.; AMATO, S.B. *Protocolos para laboratório - Coleta e processamento de parasitos de pescado*. Rio de Janeiro: Imprensa Universitária UFRRJ, 1991. 77p.

CHAGAS, A.C.S. Controle de parasitas utilizando extratos vegetais. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v.13, p.156-60, supl. 1, 2004.

CORDEIRO, L.N.; ATHAYDE, A.C.R.; VILELA, V.L.R.; COSTA, J.G.M.; SILVA, W.A.; ARAUJO, M.M.; RODRIGUES, O.G. Efeito *in vitro* do extrato

etanólico das folhas do melão-de-São-Caetano (*Momordica charantia L.*) sobre ovos e larvas de nematóides gastrintestinais de caprinos. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v.12, p.421-426, 2010.

COSTA, C.T.C. et al. Efeito ovicida de extratos de sementes de *Mangifera indica L.* sobre *Haemonchus contortus*. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v.11, p.57-60, 2002.

FAHS, B.M.A. Noni Needn't Taste Nasty. In: HAWAII' NONI CONFERENCE, 1., 2002, Hawaii. *Proceedings ... Hawaii: University of Hawaii at Manoa, College of Tropical Agriculture and Human Resources*, 2002. p.17-19.

FERNANDES, M.Z.L.C.M.; FERNANDES, R.M.; BRITO, D.R.B.; BORBA, H.R. Efeito anti-helmíntico dos extratos aquosos e etanólicos da *Annona squamosa L.* (fruta-do-conde) sobre o nematóide *Ascaridia galli*. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v.11, p.124-129, 2009.

FERNANDES, R.M. et al. Atividade anti-helmíntica de plantas em frangos naturalmente infectados com *Ascaridia galli*. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.57, p.264-266, 2005.

FREITAS, M. G. *Helminologia Veterinária*. Belo Horizonte: Rabelo & Brasil, 1977. p.397.

- HADINOTO, I.; HADISOEWIGNYO, D.L. Potential anthelmintic effect of the juice of *Morinda citrifolia* Linn. on *Ascaridia galli* in vitro. *Media Kedokteran Hewan*, v.20, p.19-22, 2003.
- HEINICKE, R.M. The pharmacologically active ingredient of noni. *Pacific Tropical Botanical Garden Bulletin*, v.15, p.10-14, 1985.
- KALEYSA RAJ, R. Screening of indigenous plants for anthelmintic action against human *Ascaris lumbricoides* Part II. *Indian Journal Physiology Pharmacology*, v.19, p.47-49, 1975.
- McCLATCHEY, W. From polynesian healers to health food stores: changing perspectives of *Morinda citrifolia* (Rubiaceae). *Integrative Cancer Therapies*, v.1, p.110-120, 2002.
- MORTON, J.F. The ocean-going noni, or Indian mulberry (*Morinda citrifolia*, Rubiaceae) and some of its “colorful” relatives. *Economic Botanic*, v.46, p.241-256, 1992.
- NELSON, S.C. *Morinda citrifolia* L. permanent agriculture resources. 2003. Disponível em: <<http://www.ctahr.hawaii.edu/noni/>>. Acesso em: 12 abr. 2006.
- PENELUC, T.; DOMINGUES, L.F.; ALMEIDA, G.N.; AYRES, M.C.C.; MOREIRA, L.T.; CRUZ, A.C.F.; BITTENCOURT, T.C.B.S.C.; ALMEIDA, M.A.O.; BATATINHA, M J M. Atividade anti-helmíntica do extrato aquoso das folhas de *Zanthoxylum rhoifolium* Lam. (Rutaceae), *Revista Brasileira Parasitologia Veterinária*, v. 18, supl. 1, p. 43-48, dez. 2009.
- PERMIN, A. et al. Ecto-, Endo- and haemoparasites in free-range chickens in the Goromonzi District in Zimbabwe. *Preventive Veterinary Medicine*, v.54, p.213-224, 2002.
- PIMENTEL, F.G. *Curso de estatística experimental*. 12.ed. Piracicaba: Nobel, 1987. 467p.
- SHILASKAR, D.V.; PARASAR, G.C. In vivo and kymographic studies on *Psoralea corylifolia* and piper betle against avian *Ascaridia galli*. *Indian Veterinary Journal*, v.62, p.387-394, 1989.
- SOBRAL, F.E.S.; BRANDÃO, P.A.; FREITAS, F.I.S.; ATHAYDE, A.C.R.; SOUZA, A.K.P. *Operculina hamiltonii* (G. Don) D. F. Austin & Staples (1983) e *Cucurbita pepo* L. no controle de ovos e larvas de helmintos gastrintestinais de *Gallus domesticus*. *Revista Verde*, v.5, p. 131 – 135, 2010.
- STEWART, J.S. Anthelmintic studies: I. A controlled critical entero-nemacidal test. *Parasitology*, v.45, p.231-241, 1955.
- VIEIRA, L.S.; CAVALCANTE, A.C.R.; PEREIRA, M.F.; DANTAS, L.B.; XIMENES, L.J.F. Evaluation of anthelmintic efficacy of plants available in Ceará State, North – East Brazil, for the control of goat gastrointestinal nematodes. *Revue de Médecine Vétérinaire*, v.150, p.447-452, 1999.
- WANG, M. Y. et al. *Morinda citrifolia* (Noni): A literature review and recent advances in Noni research, Review. *Acta Pharmacologica Sinica*, v. 23, p. 1127–1141, 2002.
- WILLIS, H.H. A simple levitation method for the detection of hookworm ova. In: UENO, H.; GONÇALVES, P.C. *Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes*. 3.ed., Tokyo: Japan International Cooperation Agency, 1994. p.14.
- ZHAN, J.; ZHOU, P.A. Simplified method to evaluate the acute toxicity of ricin and ricinus agglutinin. *Toxicology*, v.186, p.119-123, 2003.