



**UNIVERSIDAD AUTONOMA DEL ESTADO
DE MÉXICO**

CENTRO UNIVERSITARIO UAEM-TEMASCALTEPEC

LICENCIATURA EN INGENIERO AGRONOMO ZOOTECNISTA

**ACTIVIDAD OVICIDA IN VITRO DE DOS EXTRACTOS ACUOSOS: DE
SEMILLA Y FRUTO DE *Pithecellobium dulce* CONTRA *Haemonchus*
*contortus***

TESIS

QUE PRESENTA

URIEL TAVIRA BERRUM

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE INGENIERO
AGRÓNOMO ZOOTECNISTA**

DIRECTO DE TESIS

DR. ROLANDO ROJO RUBIO

ASESOR DE TESIS

DR. AGUSTIN OLMEDO JUAREZ

DR. BENITO ALBARRAN PORTILLO

Temascaltepec, Estado de México, Junio 2017

DEDICATORIA

A dios, que siempre me ha dado la fuerza y sabiduría para salir adelante

A mis padres:

Luis Tavira Cabrera, has sido mi consejero, amigo, sabio maestro mi mayor apoyo quien siempre ha confiado en mí, lo cual ha sido causa de mi mayor motivación para cumplir mis metas. Gracias papa

Elia Berrum Campuzano, la mujer que más aprecio y admiro por que ha sido una guerrera que ha luchado por el bienestar de cada uno de sus hijos, pero sobre todo por haberme traído a la vida. Te quiero con toda mi alma mama

A mis hijas Melany y Estefania, que han sido mi razón de seguir hacía adelante, que con sus tiernas sonrisas me fortalecen y alimentan mi alma para seguir luchando

A mis hermanos:

Giovani, Harim, Azucena, Rigoberto, Carmina, Yolanda, María Guadalupe, Denia, Raul, Luis, Samuel, Gracias por todo su apoyo y sus mejores consejos que me han impulsado a seguir adelante. Gracias por todo los quiero mucho

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, hermanos, sobrinos, e hijas, por todo el apoyo que me brindaron en todo el trayecto de mi carrera

Dr. Rolando Rojo, por todo el tiempo que destino para apoyarme en mi formación profesional

Dr. Agustín Olmedo, por su amistad e invaluable apoyo en el transcurso del trabajo de investigación

A mis compañeros amigos Nacho, Ranferi, Luis, Roberto, Noé, Adriana, Nadia, Brianda, Vero, Neo Timbres, Nuevo, Con los que pase buenos momentos

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISION DE LITERATURA.....	2
2.1 Uso de recursos forrajeros para la alimentación del ganado	2
2.2 Plantas con propiedades antihelmínticas	2
2.2.1 Análisis fitoquímico de hojas de 3 leguminosas	5
2.2.2 Taninos	6
2.2.3 Papel de los taninos en las plantas	6
2.2.4 Localización de los taninos en los tejidos vegetales	6
2.2.5 Contenido de taninos en una planta	7
2.2.6 Efecto de los taninos condensados	8
2.2.7 Plantas ricas en taninos condensados	8
2.2.8 <i>Pithecellobium dulce</i>	9
2.2.9 Morfología	10
2.3 Nematodo	11
2.3.1 Clasificación de los Nematodos	12
2.3.2 Descripción del género <i>Haemonchus spp</i>	13
2.3.3 Ciclo biológico de los nematodos	14
2.3.4 La fase de vida libre.....	17
2.3.5 La fase parasitaria	18
2.3.6 Biología de las larvas infestantes	19
2.3.7 Nivel de parásitos en las pasturas	20
2.3.8 Consecuencias de las estrogilosis gastrointestinales en los rumiantes.....	21
2.3.9 Impacto sobre las producciones	21
2.4. Pérdidas económicas	22
2.5 Cuadro clínico de los estrogílicos gastrointestinales.....	24

2.5.1 Diagnóstico.....	24
2.5.2 Diagnóstico por mecanismos fisiopatológicos y patogénicos	25
2.6 Métodos de control parasitario	26
2.6.1 Control selectivo por la prueba FAMACHA.....	27
2.6.1 Control mediante hongos hematófagos	28
2.6.2 Reducir las fuentes de contaminación de los animales (Gestión ambiental).....	30
2.6.3 La prevención	31
2.6.4 La evasión	31
2.7 Mejorar la resistencia de los hospederos.....	32
2.7.1 La resiliencia	33
2.7.2 La resistencia	33
2.8 Mejora de la nutrición del hospedero	33
2.8.1 La vacunación	34
2.8.2 Selección de animales genéticamente resistentes.....	34
2.8.3 Inmunidad del ovino ante los helmintos	35
2.8.4 Inmunidad innata	36
2.8.5 Inmunidad adquirida.....	36
2.8.6 Inmunidad específica hacia los helmintos	37
2.9 Factores que influyen en la expresión de la inmunidad ...	38
2.9.1 Edad y peso de los cabritos.....	38
2.9.2 Sexo	38
2.9.3 Raza	38
2.9.4 Tratamientos alternativos	38
2.9.5 Enzimas eosinofílicas en la destrucción del parásito	40
2.9.6 Leucocitos globulares	40
2.9.7 Efectos sobre la ingestión voluntaria de alimentos (consumo voluntario).....	42

2.9.8 Mejora los indicadores reproductivos.....	42
2.9.9 Efectos de los taninos condensados sobre los parásitos gastrointestinales de los rumiantes	42
2.9.10 Eficacia antihelmíntica de extractos	43
2.9.11 Efectos sobre los parásitos adultos	43
III. JUSTIFICACIÓN	45
IV. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN	46
V. HIPÓTESIS	47
VI. OBJETIVOS	48
VII. MATERIALES Y MÉTODOS.....	49
7.1. Lugar experimental.....	49
7.2. Colecta del material vegetativo y preparación de los extractos	49
7.3. Material biológico.....	50
7.3.1. Obtención de huevos de <i>Haemonchus contortus</i>	50
7.4. Diseño experimental	51
7.5. Análisis estadístico	52
VIII. RESULTADOS.....	53
8.1. Inhibición de la eclosión de huevos de <i>H. contortus</i>	53
8.2. Concentraciones letales de los extractos PDSF y PDS contra huevos de <i>Haemonchus contortus</i>	54
IX. DISCUSIÓN.....	55
X. CONCLUSIONES.....	57
XI. LITERATURA CITADA	58

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Pag
1	Concentración de taninos condensados de las hojas de tres especies forrajeras, colectadas en dos épocas del año	5
2	Características nutricionales y nutraceuticas de la leguminosa P: dulce	10
3	Clasificación de los principales nematodos gastrointestinales en rumiantes	12

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Pag
1	Árbol de <i>Pithecellobium dulce</i> , común en la zona sur poniente del estado de México	9
2	Phyllum Nematodos (Nemathelminthes o Nematoda)	11
3	Ciclo biológico de los nematodos gastrointestinales en rumiantes	13
4	Fruto de <i>Pithecellobium dulce</i> , común en la zona sur poniente del estado de México	48
5	Colecta de heces	49
6	Placas de microtitulación de 96 pozos	50
7	Inhibición de la eclosión de huevecillos en <i>Haemonchus contortus</i> a diferentes niveles del extracto acuoso de <i>Pithecellobium dulce</i> (semilla y fruto completo).	52
8	Concentraciones letales del extracto de fruto con semilla y de semilla sobre la inhibición de huevos del nematodo <i>Haemonchus contortus</i>	53

I. INTRODUCCIÓN

La producción de ovinos en sistemas extensivos regularmente se enfrentan a dos tipos de problemas: deficiencias nutricionales y parasitosis gastrointestinales (Olmedo *et al.*, 2014). Los caprino cultores, regularmente no suplementan a sus animales. Asimismo, suelen desparasitar su rebaño sin asesoría de un profesional, por lo que se genera resistencia por parte de los parásitos hacia los antiparasitarios (Arece *et al.*, 2004; Wolstenholme *et al.*, 2004,). A partir de esta situación surge la necesidad de buscar otras estrategias en el control de los nematodos gastrointestinales (NGI). Las plantas medicinales con alto contenido de metabolitos secundarios, tienen actividad antihelmíntica y podrían ser una opción, debido a la presencia de algunos compuestos fenólicos como los flavonoides y taninos (Torres Acosta *et al.*, 2012; Olmedo *et al.*, 2017). Algunas leguminosas en México (*Lysiloma acapulcensis*, *L. latisilicum*, *Pithecellobium dulce* y *Acacia cochliacantha*) han sido estudiadas (Martínez de Motellano *et al.*, 2103; Olmedo *et al.*, 2014; Castillo-Mitre *et al.*, 2017) y han demostrado su actividad *in vitro* en la eclosión de huevos, migración y desarrollo larvario de *H. contortus* en ovinos. Una hipótesis que se plantea sobre el mecanismo de acción de los compuestos secundarios de las plantas, es que se daña la cutícula del huevo o bien se afecta la estructura epitelial del aparato reproductor de los vermes adultos. Por lo anterior el objetivo del presente trabajo fue evaluar la actividad ovicida *in vitro* del extracto acuoso de semilla y fruto de *Pithecellobium dulce* contra *Haemonchus contortus*.

II. REVISION DE LITERATURA

2.1 Uso de recursos forrajeros para la alimentación del ganado

El uso de plantas con alto contenido nutricional en la alimentación y el cuidado de la salud del ganado es una estrategia altamente rentable y sostenible. Existen algunas plantas como los árboles y arbustos forrajeros nativos, que además de aportar nutrientes de buena calidad, producen metabolitos secundarios que muestran efecto sobre los nematodos gastrointestinales (Pérez *et al.*, 2014).

El uso de plantas bioactivas ricas en metabolitos secundarios y especialmente aquellas que contienen taninos, han recibido gran atención últimamente y han sido propuestas como método de control de NGI en rumiantes. El efecto AH de los taninos ha sido asociado con su capacidad para formar complejos con la proteína de los parásitos (Alonso-Díaz *et al.*, 2011), de esta manera, los taninos podrían afectar la biología de los nematodos interfiriendo con su motilidad, proceso de desenvaine, desarrollo larval y eclosión de huevos (Brunet *et al.*, 2011).

2.2 Plantas con propiedades antihelmínticas

En la mayoría de los continentes, fundamentalmente en países en vías de desarrollo, la medicina tradicional se basa en el conocimiento empírico del uso de plantas (etnomedicina veterinaria) y es ampliamente difundida (Hounzangbe-Adote, 2004; Githiori *et al.*, 2006). Por otro lado, en los países desarrollados apuestan por una agricultura sostenible y biológica, que logren reducir los residuos químicos en los alimentos de origen animal (Waller y Thamsborg, 2004).

Otro aspecto a considerar en el empleo de métodos alternativos de control parasitario es la reducción de la presión de selección al minimizar su uso pues presentan ventajas comparativas como 1) la disponibilidad de recursos de este tipo, 2) la ausencia actual de resistencia a los compuestos activos y, 3) escasa disponibilidad de antiparasitarios de calidad en los países en desarrollo.

Las plantas pueden funcionar ya sea como remedios con preparaciones a base de ellas, o de acuerdo con el concepto más innovador de las plantas como operadores nutracéuticos.

Las preparaciones fitoterapéuticas a base de plantas son por lo general preparadas con mezclas complejas de compuestos activos, que se brindan para tratar los animales infestados por un periodo corto. Los nutracéuticos se definen como una planta que es consumida por los animales y brinda ventajas tanto sobre la salud de los animales como en su nutrición en su sentido estricto (Andlauer y Furst, 2002). Su incorporación en la ración, por periodos más prolongados (de varios días a un mes) es generalmente concebido con fines preventivos.

Los estudios sobre el efecto de las plantas con propiedades antiparasitarias han permitido confirmar el interés potencial del ajo (*Allium sativa*), de saifoin (*Onobrychis viciifolia*), papaya (*Carica papaya*), hoja de yuca (*Manihot esculenta*), o algunas arbustivas tropicales como (*Leucaena leucocephala* y *Lysiloma latisiliquum*, entre otras), (Marley *et al.*, 2003; Githiori *et al.*, 2006; Chagas *et al.*, 2008).

El empleo potencial de las plantas con principios bioactivos presenta también sus limitantes. La primera de ella resulta la escasez de información científica

sobre los compuestos activos, su modo de acción y, los factores que influyen en su efectividad. Otro elemento es la toxicidad eventual en los animales de algunas especies y la adecuada posología para encontrar su efecto benéfico (Githiori *et al.*, 2006).

Sin embargo, debido a su explotación como forrajes, los efectos nutraceuticos a menudo se consideran de bajo riesgo tóxico. La variabilidad inherente de las plantas de acuerdo a las condiciones ambientales o de crecimiento en función de las especies o variedades utilizadas deben también ser consideradas y estudiadas a fin de estandarizar los mejores tratamientos fitoterapéuticos, de acuerdo a la planta, las condiciones climáticas y las prácticas de crianza de los animales (Rochfort *et al.*, 2008). Una última limitación es el riesgo ecológico posible. Los casos de sobre-explotación de las plantas por sus propiedades medicinales ya han sido reportadas con un impacto ambiental relacionada con el riesgo de extinción de las especies de plantas o de fenotipos de interés en ciertas regiones (Hounzangbe-Adote *et al.*, 2004).

(Chagas *et al.*, 2008) demostraron en ovejas como los alcaloides son responsables del efecto antihelmíntico del árbol del Neem (*Azadirachta indica*). Los sesquiterpenos se sospecha sean los responsables de las propiedades antiparasitaria de achicoria (*Cychorium intybus*) (Marley *et al.*, 2003). Por su parte, Githiori *et al.*, (2006) informaron que los compuestos responsables de la actividad antiparasitaria de *Calotropis procera* y *Terminalia glaucescens* parecen ser alcaloides y antraquinonas, respectivamente. Mientras que Castillo-Mitre *et al.* (2017), reportan que los derivados de cafeolios y cumarolios

de *Acacia cochliacantha* son los principales compuestos que tienen actividad ovicida sobre *H. contortus*.

En la temática del uso de plantas con propiedades antiparasitarias en los últimos 20 años se ha puesto de manifiesto que la explotación de las propiedades bioactivas de las plantas antiparasitarias es una alternativa válida para el empleo de los AHs sintéticos (Niezen *et al.*, 1996; Githiori *et al.*, 2006; Hoste *et al.*, 2006). En particular, los resultados más alentadores se presentan en el valor potencial de las plantas, incluidas las leguminosas, ricas en taninos condensados.

2.2.1 Análisis fitoquímico de hojas de 3 leguminosas

En el Cuadro 1, se muestra el contenido de un análisis de metabolitos secundarios (taninos) de tres leguminosas (Rojo, *et al.*, 2008; Camacho *et al.*, 2010; Olmedo *et al.*, 2014), donde *Pithecellobium dulce* mostró menos efectos detrimentales en la nutrición de pequeños rumiantes y que tiene valores de digestibilidad superiores al 60 %.

Cuadro 1. Concentración de taninos condensados de las hojas de tres especies forrajeras, colectadas en dos épocas del año.

Época	Especie	TCL*	TCAF*	TCA P*	TCT*
Secas	<i>Lysiloma Acapulcencis</i>	101.6 ^{ab}	2.8 ^c	55.8 ^b	160.24 ^a
	<i>Quercus laeta</i>	80.2 ^{bc}	2.5 ^c	26.3 ^c	108.99 ^b
	<i>Pithecellobium Dulce</i>	68.3 ^{cd}	4.7 ^a	21.1 ^c	94.11 ^{bc}
Lluvias	<i>Lysiloma Acapulcencis</i>	116.3 ^a	3.7 ^b	67.8 ^a	187.77 ^a
	<i>Quercus laeta</i>	64.2 ^{cd}	2.7 ^c	23.0 ^c	89.90 ^{bc}
	<i>Pithecellobium Dulce</i>	36.6 ^d	4.1 ^{ab}	21.8 ^c	62.55 ^c

*Valores expresados en g kg⁻¹ de MS, TCL: Taninos condensados libres, TCAF: Taninos condensados adheridos a fibra, TCAP: Taninos condensados adheridos a proteína, TCT: Taninos Condensados totales. Medias en la misma columna con distinta literal son diferentes (P<0,05). Camacho *et al.*, 2010

2.2.2 Taninos

El término “tanino” se deriva de la palabra tanning que se refiere a la preservación o curtido de pieles (Waghorn, 2008). Son un conjunto de componentes naturales de origen vegetal capaces de vincularse principalmente con las proteínas y en menor intensidad con iones de metal, aminoácidos y polisacáridos (Rochfort *et al.*, 2008). Los taninos forman parte de la fuerte interacción bioquímica.

2.2.3 Papel de los taninos en las plantas

Los taninos como metabolitos secundarios de los vegetales (Bruneton, 1999) no están implicados en el crecimiento y la reproducción de las plantas, sin embargo desempeñan un papel en la defensa frente a agresiones de diversos fitófagos. Por lo tanto, altas concentraciones de estos metabolitos en las plantas inhiben el desarrollo de bacterias, hongos y nematodos patógenos (Collingborn *et al.*, 2000).

Se ha demostrado que la ingestión de taninos causa lesiones en el tracto gastrointestinal (TGI) de los herbívoros (Ayres *et al.*, 1997). La presencia excesiva de taninos también afecta el sabor de las plantas por lo que disminuye su palatabilidad y capacidad de consumo, como resultado de la astringencia que estos ocasiona (Jean, Blain, 1998; Bennick, 2002).

2.2.4 Localización de los taninos en los tejidos vegetales

Todos los órganos de las plantas pueden contener taninos, pero la localización principal difiere según la especie de planta en cuestión. De manera general los taninos son mayoritariamente almacenados dentro de los tejidos epidérmicos y sub epidérmicos de las hojas, pero también se pueden encontrar dentro del pericarpio de los frutos y raíces. A nivel celular, los taninos hidrosolubles (TH)

están predominantemente dentro de las paredes celulares y entre los espacios intracelulares. Los taninos condensados (TC) son sobre todo almacenados en la vacuolas intracelulares en forma libre y, en proporciones variables, vinculadas a las fibras (lignina) o proteínas de las paredes celulares (Frutos *et al.*, 2002). Una misma especie de planta puede sintetizar TC y TH y pueden tener una diferencia en la distribución de cada uno de ellos de acuerdo al órgano de la planta en cuestión (Jean-Blain, 1998).

2.2.5 Contenido de taninos en una planta

El contenido de taninos de una planta depende de varios factores intrínsecos, tales como las especies y la variedad, la parte o etapa de la planta, y extrínsecos, como el clima, el estrés o la depredación del suelo dada por la presión de los herbívoros (Jean, Blain, 1998).

Diferentes órganos de la planta muestran distintos niveles de taninos. Por ejemplo; Martínez Ortiz de Montellano (2010) encontró concentraciones más altas en las frutas, flores y hojas, y las más bajas en los tallos en la leguminosa *L. latisilicum*. Dentro de una misma especie en un mismo sitio geográfico, existe una variabilidad significativa en el contenido de taninos del follaje entre diferentes individuos (Alonso, Díaz *et al.*, 2010).

En general, durante el crecimiento de la vegetación, hay una dilución de los taninos. En las hojas, la cantidad y calidad de los taninos cambia durante la maduración. Del mismo modo, en el fruto el contenido de taninos normalmente disminuye (Martínez Ortiz de Montellano, 2010).

2.2.6 Efecto de los taninos condensados

El principio enunciado por Paracelso (“*la dosis solo hace el veneno*”) sigue siendo válida para el caso de los TC, ya que los efectos negativos sobre la producción y la salud de los animales han sido observadas únicamente después de la ingestión masiva de recursos forrajeros ricos en TC. Inversamente a los TH, los TC son raramente asociados con una toxicidad aguda en los rumiantes (Butter *et al.*, 1999). Un nivel de consumo bajo o moderado de TC se asocia con efectos favorables, mientras que la ingestión de elevados niveles resulta en aspectos negativos en parámetros de salud y sobre la fisiología digestiva de los animales (Butter *et al.*, 1999; Min *et al.*, 2003). Por consiguiente, se pueden identificar tres tipos de consecuencias zootécnicas según los niveles de TC en la ración (Paolini, 2004). Los TH son más tóxicos que los TC por su rápida absorción. Se debe a que no se enlazan con las proteínas y se absorbe ya sea de manera pura a una mayor concentración. Estas intoxicaciones son referidas más a bovinos, sin embargo los pequeños rumiantes parecen ser más resistentes. Los TH dan origen a necrosis severas y ulceraciones del epitelio del esófago, estomacal, intestinal y de los tejidos hepáticos y renales (McLeod, 1974; McSweeney *et al.*, 2001; Garg *et al.*, 1992; Reed, 1995) esto puede provocar lesiones hepáticas y renales irreversibles, pudiendo causar la muerte entre los 5 y los 10 días post ingestión.

2.2.7 Plantas ricas en taninos condensados

De manera general, los TC se encuentran mayormente distribuidos en el reino vegetal que los GHZ (Jean-Blain, 1998), ya que estos se encuentran tanto en las Angiospermas como en las Gymnospermas (Bruneton, 1999). Determinadas especies de la familia Pinaceae, de Fagaceae (roble), de

Rosidaeae (acacias) y, de Rosaceae (manzanas, fresas) contienen cantidades considerables de TC superiores al 5% de la MS. Entre las Fabaceae (leguminosas), determinadas especies forrajeras, como *Onobrychis viciifoliae*, *Hedysarum coronarium*, *Lotus pedunculatus* poseen niveles entre 2 y 5%. En tanto, en las zonas tropicales los arbustos como, *L. leucocephala*, *D. cinérea*, *Gliricidia sepium* poseen niveles entre 15 y 22% (Romero *et al.*, 2000; Mlambo *et al.*, 2004).

2.2.8 Pithecellobium dulce

La leguminosa *Pithecellobium dulce* es una especie perennifolia con una distribución comprendida desde el este y oeste de México (sur de Baja California Sur, sur de Sonora y Tamaulipas), América Central hasta Colombia interandina y el oeste de Venezuela, localizándose desde el nivel del mar hasta aproximadamente 1550 msnm. De igual manera, esta especie ha sido ampliamente cultivada en otras partes del mundo como el oeste de la India, Filipinas, Asia tropical, Florida subtropical, las islas hawaianas, Guyana y el este de Brasil.

En México se le conoce comúnmente con los nombres de “Guamúchil”, “Huamúchil”, “Guamuti”, “pinzan”. Es un árbol común en los climas cálidos de todo el país (Figura 1).

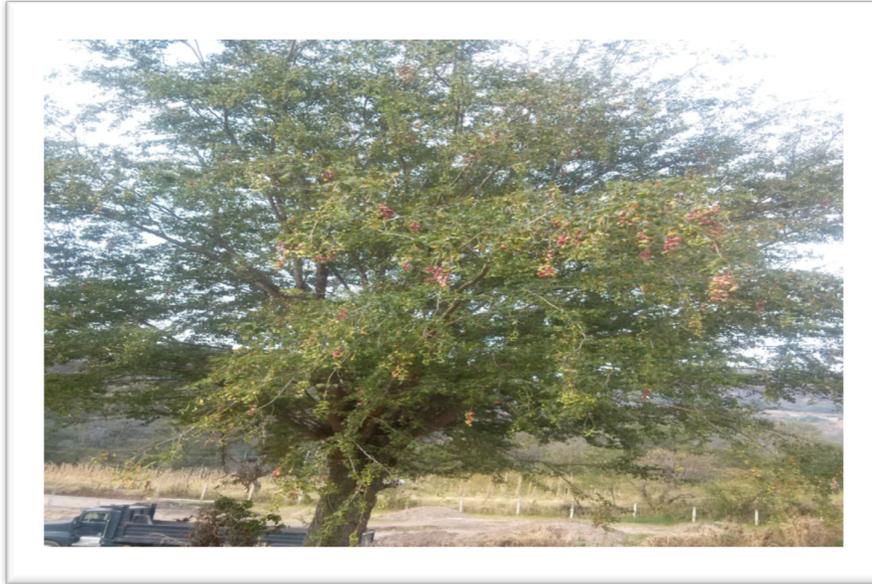


Figura 1. Árbol de *Pithecellobium dulce*, común en la zona sur poniente del estado de México

2.2.9 Morfología

Se caracteriza por presentar hojas trifoliadas; flores en cabezuela; vainas dehiscentes, lineares, curvadas o enrolladas y semillas reniformes negras cubiertas por un arilo carnosos. Es una especie de uso alimenticio, ornamental, maderable, de rápido crecimiento y adaptado a la temporada de sequía. Cariotípicamente, *P. dulce* (es un género poco conocido pues la literatura únicamente registra trabajos sobre números cromosómicos.) Es un árbol de múltiples usos que tiene entre sus funciones la de utilidad como cerca viva en los campos de cultivo (Tapia-Pastrana y Gómez- Acevedo, 2005). Megalaa y Geethab (2012), realizaron estudios de cromatografía líquida de alta presión, encontrando a *Pithecellobium dulce* rica en fenoles, compuestos de flavonoides-quercitrina, kaempferol, naringina y daidzeína. Compuestos que tienen efectos en el desarrollo de los NGI en los estadios de huevos larvas y vermes adultos

Cuadro 2. Características nutricionales y nutracéuticas de la leguminosa *P; dulce*.

Características	Cantidad
Alto contenido de vitamina C	(79.7-82.6 mg/ 100 g de peso fresco)
Fibra dietética	(5.83-6.12%)
Contenido de antocianina	(29.5 mg/100 g)
Fenoles totales	(517 mg/10 g)
Actividad antioxidante	(ABTS, 224 mg. DPPH, 223 mg, como equivalentes de vitamina c)

(Pio-León *et al.*, 2013)

2.3 Nematodo

El *Phylum* nematoda incluye el grupo más numeroso de parásitos de los animales domésticos y del hombre. Su cuerpo es cilindroide, no segmentado con un tracto intestinal y una cavidad general. Son de forma redonda en sección trasversal y están cubiertos por una cutícula más o menos resistente a la digestión intestinal (Figura 2).

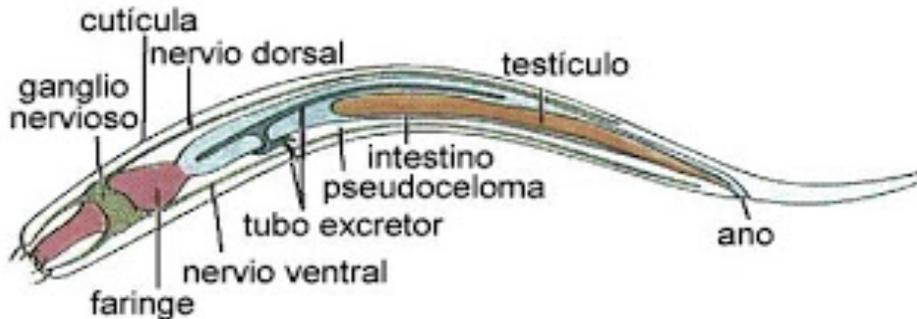


Figura.2. Phylum Nematodos (Nemathelminthes o Nematoda)

Los nematodos son gusanos que se encuentran extensamente distribuidos en una variedad de hábitats. Algunos tienen vida libre; otros son parásitos de plantas y de animales vertebrados o invertebrados.

2.3.1 Clasificación de los Nematodos

Los Nematodos pertenecen al Reino: Animalia, Phylum Nematoda, Clases Adenophorea (Aphasmidia) y Secernetea (Phasmidia), estas clases se dividen en súper familias (ejem. Trichostrongylidae) y luego en géneros y especies (ejem. *Haemonchus contortus*) (Cordero del Campillo y Rojo-Vázquez 2001). Existen alrededor de 20,000 especies descritas (Cuadro 3) para los diversos géneros, pero aún quedan algunos miles esperando su descripción, la mayoría, especies de vida libre (Pechenik, 1999).

Cuadro 3. Clasificación de los principales nematodos gastrointestinales en rumiantes.

Subfamilia	Especies	Localización en el hospedero	Hospederos
<i>Haemonchinae</i>	<i>Haemonchus contortus</i>	Abomaso	Ovinos y caprinos
	<i>Haemonchus placei</i>		Bovinos
	<i>Haemonchus longistipes</i>		Dromedarios
<i>Trichostrongylinae</i>	<i>Trichostrongylus colubriformis</i>	Intestino delgado	Ovinos, caprinos y bovinos
	<i>Trichostrongylus axei</i>	Abomaso	Ovinos, caprinos, bovinos, cerdos y caballos
	<i>Trichostrongylus vitrinus</i>	Intestino delgado	Ovinos y caprinos
	<i>Trichostrongylus capricola</i>	Intestino delgado	Ovinos y caprinos
<i>Ostertagiinae</i>	<i>Teladorsagia circumcincta</i>	Abomaso	Ovinos y caprinos
	<i>Ostertagia ostertagi</i>		Bovinos
	<i>Ostertagia occidentalis</i>		Ovinos
	<i>Ostertagia trifurcata</i>		Ovinos y caprinos
<i>Cooperiinae</i>	<i>Cooperia curticei</i>	Intestino delgado	Ovinos y caprinos
	<i>Cooperia oncophora</i>		Bovinos
	<i>Cooperia punctata</i>		Bovinos
<i>Nematodirinae</i>	<i>Nematodirus battus</i>	Intestino delgado	Ovinos y bovinos
	<i>Nematodirus helvetianus</i>		Bovinos
	<i>Nematodirus spathiger</i>		Ovinos, caprinos y bovinos
	<i>Nematodirus fillicolis</i>		Ovinos y caprinos
<i>Oesophagostominae</i>	<i>Oesophagostomum venulosum</i>	Ciego y colon	Ovinos y caprinos
	<i>Oesophagostomum columbianum</i>		Ovinos y caprinos
	<i>Oesophagostomum radiatum</i>		Bovinos y búfalos
<i>Chabertiinae</i>	<i>Chabertia ovina</i>	Colon	Ovinos, bovinos y caprinos

2.3.2 Descripción del género *Haemonchus spp*

Los adultos son de color rojizo y de 1 a 3 cm de longitud. Las hembras son ligeramente mayores que los machos. Poseen estriaciones longitudinales. El útero se enrolla alrededor del intestino de color rojizo por la sangre ingerida, y la vulva tiene una lengüeta característica. La cavidad bucal tiene una lanceta dorsal que sirve para cortar los tejidos del hospedador. Los machos tienen 2 espículas. Los huevos miden unas 45 x 80 micras (Soulsby, 1988).

2.3.3 Ciclo biológico de los nematodos

El ciclo de vida de la mayoría de los nematodos es directo, es decir, no necesitan de otros animales para completarlo y está dividido en dos fases: exógena y endógena (Soca *et al*, 2005). La fase exógena inicia con la expulsión de los huevos en las heces fecales del animal al exterior. En circunstancias favorables de oxigenación, temperatura (20 °C) y humedad (80%), los huevos eclosionan para dar origen a larvas L1, las que a su vez pasan a ser larvas del segundo estadio (L2); en este proceso se desprenden de su cutícula protectora. Las larvas L2 obtienen una segunda muda para transformarse en larva tres (L3) o estadio infestante (Figura 3).

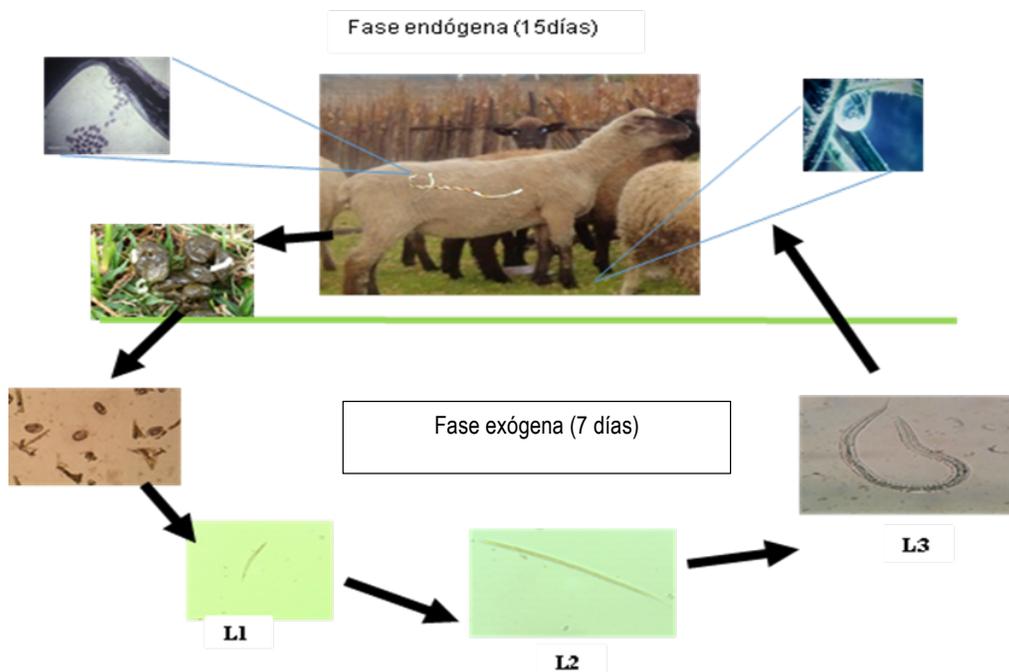


Figura 3. Ciclo biológico de los nematodos gastrointestinales en rumiantes

Tanto la L1 como la L2 se alimentan de las bacterias presentes en las heces fecales; sin embargo la L3, que se encuentra cubierta por la cutícula desprendida de la L2, no puede alimentarse y depende de sus reservas alimenticias para su supervivencia. Cuando esas reservas se agotan las larvas

mueren. El tiempo requerido para que los huevos se transformen en larvas infestantes, cuando las condiciones ambientales son favorables, se estima alrededor de siete a diez días. En temperaturas más frescas el proceso puede prolongarse. La L3 infestante suele ser activa y migra de las heces fecales hacia los tallos y las hojas de los pastos que sirven de alimento a los animales, para de ese modo infestarlos. Según Soca *et al*, (2005) la migración de las larvas suele ser mínima durante el día y de máxima intensidad en la noche. La fase endógena se inicia con la ingestión de la L3 y termina con el desarrollo de los parásitos, la cópula y la producción de huevos. Una vez dentro del sistema digestivo, con el incremento del pH que ocurre en el rumen, la larva infestante (L3) muda mediante la secreción de la enzima leusinoaminopeptidasa producida por sus células neurosecretoras. Según Arece (2000) las larvas de Nematodos del abomaso (*Haemonchus*, *Trichostrongylus* y *Ostertagia*) liberan la vaina en el rumen y los que habitan en el intestino delgado y grueso la liberan en el abomaso. Las L3 penetran la membrana mucosa o entran en las glándulas gástricas, donde se transforman en L4. Aquí permanecen entre 10 y 14 días, y su desarrollo puede inhibirse temporalmente por condiciones fisiológicas adversas. Posteriormente las L4 dejan la mucosa y se alojan en el lumen abomasal para transformarse en larvas L5 y después en parásitos adultos, hembras y machos. El período prepatente en la mayoría de los *Trichostrongylus* ocurre entre las tres y cuatro semanas; sin embargo, según Swai *et al*. (2006) nos dicen que el ciclo de vida de *Oesophagostomum* requiere seis semanas para completarse. Las larvas infestantes penetran la lámina de la pared intestinal, se forman nódulos fibrosos, emergen en el lumen del intestino después de aproximadamente dos semanas y maduran en las

cuatro semanas siguientes. En animales previamente infestados las larvas pueden pasar un período de tiempo prolongado (de tres a cinco meses) en los nódulos, muchas pueden morir y finalmente calcificarse. Existen investigaciones en las que se ha observado que la producción de huevos por hembras adultas puede variar en dependencia del género de Nematodos; por ejemplo, *Cooperia* produce muchos huevos, pero es poco patógena; mientras que las hembras de *Trichostrongylus* son altamente patogénicas, pero producen pocos huevos. Swai *et al.* (2006), señalan que una hembra de *Haemonchus* y de *Oesophagostomum* puede producir entre 5000 y 10 000 huevos por día; mientras que *Ostertagia* y *Trichostrongylus* varían entre 100 y 200 huevos, *Cooperia* entre 1 000 y 3 000, y *Nematodirus* entre 50 y 100. El número de huevos producido por una hembra también puede estar influido por: el número de parásitos adultos alojados en los órganos, el estadio de infestación, la relación macho-hembra, el nivel de inmunidad, la edad, el estado fisiológico del hospedero y la consistencia de las heces fecales. Por otra parte, dentro del ciclo de vida de los nematodos gastroentéricos se encuentra un proceso que puede alterar su ciclo normal, al cual se le denomina larvas en hipobiosis, arresto larvario o desarrollo inhibido. En el interior del hospedero las larvas L4 pueden tomar dos rutas: la de completar el ciclo biológico, desarrollándose hasta parásito adulto, y la de permanecer en forma aletargada en la mucosa del compartimiento de su localización. Las principales causas de hipobiosis en las larvas son: las condiciones ambientales, las condiciones de salud del hospedero y la nutrición, entre otras. Según Quiroz (2005) el período de hipobiosis o desarrollo larvario tisular en letargo temporal tiene un papel muy importante en la epidemiología de las estrogilosis gastrointestinales, ya

que permite que la cuarta larva se conserve en la pared intestinal durante el período o estación en que las condiciones climáticas y ambientales generalmente no son favorables para el desarrollo de los estados evolutivos fuera del huésped; ello favorece que el parásito no envejezca y que cuando las condiciones se vuelvan favorables, los huevos que salen tengan más posibilidades de sobrevivir y, por tanto, establecer un nuevo ciclo evolutivo (Soca *et al*, 2005.)

El ciclo biológico de los NGI de los rumiantes es monoxeno (figura3) (posee un solo hospedero definitivo) y comprende dos fases: una fase libre en el medio exterior (fase exógena) y una fase parasitaria en el hospedero (fase endógena) (Urquhart *et al.*, 1996; Chartier *et al.*, 2000).

2.3.4 La fase de vida libre

Esta fase exógena del ciclo de vida de los NGI se inicia por la eliminación por las heces de huevecillos ovopositados por las hembras de los parásitos al medio exterior. Este elemento asegura la contaminación de las praderas las cuales con condiciones externas favorables (temperatura mínima de 10°C; humedad relativa de 60%) los huevos embrionan y eclosionan liberando larvas del primer estadio (L1) (Euzéby, 1963; Smith y Sherman, 1994; Urquhart *et al*, 1996).

Después de dos mudas sucesivas, las L1 evolucionan hasta la larva del tercer estadio o larva infestante (L3). Contrariamente a los huevos y las larvas L3 las L1 y L2 son poco resistentes a las condiciones adversas del medio ambiente. En zonas templadas y según las condiciones ambientales, las L3 pueden sobrevivir varios meses en las praderas (O'Connor *et al*, 2006). Al contrario, en

zonas tropicales/subtropicales, la sobrevivencia de las L3 es menor pudiendo ser de algunas semanas debido al incremento de la actividad física favorecida por las elevadas temperaturas y humedad que agota sus reservas lipídicas (Urquhart *et al.*, 1996; O'connor *et al.*, 2006).

2.3.5 La fase parasitaria

Esta fase comienza después de la ingestión de las larvas L3 por el hospedero. La primera etapa de la invasión del tubo digestivo por las L3 corresponde a su desenvainamiento (pérdida de la vaina procedente de las L2). Este fenómeno marca la transición entre la vida libre y la vida parasitaria (Sommerville y Rogers, 1987; Hertzberg *et al.*, 2002). Después del desenvainamiento, las L3 penetran en la mucosa de los órganos digestivos, lugar donde mudan a larvas L4. Inmediatamente alcanzan el estado 5 (S5), también denominado estado pre-adulto o adulto juvenil. El paso del S5 al estado adulto corresponde la adquisición de la madurez sexual. Después de la fecundación por los machos, las hembras depositan sus huevecillos en la materia fecal de los hospederos (Euzéby, 1963).

La cronología del desarrollo de los estados parasitarios de los NGI difiere en función de la especie, de la importancia de la infestación o del hospedero (resistencia). El tiempo entre la ingestión de las L3 por el hospedero y la primera puesta de huevos por los adultos se denomina periodo prepatente. En general, este dura de 2 a 3 semanas por la mayor parte de las especies de los ovinos y caprinos. Puede durar hasta cinco semanas para ciertas especies de Strongyloidea de los bovinos, por ejemplo, *Oesophagostomum radiatum* (Urquhart *et al.*, 1996).

En periodos invernales, en zonas templadas o durante un prolongado periodo seco en zonas tropicales, es muy frecuente que las larvas se enquisten dentro de la mucosa digestiva y entran en hipobiosis larvaria lo cual retarda su desarrollo. Estas larvas enquistadas continúan su evolución en la primavera o en los periodos lluviosos siguientes (Euzéby, 1963; Smith *et al.*, 1994; Chartier *et al.*, 2000). En este caso, la duración del periodo prepatente pasa de 3 semanas a 3 o 4 meses.

El *H. contortus* es hematófago. Se nutre de la sangre de su hospedero y puede provocar anemias severas (sobre todo en los animales jóvenes y cuando hay infecciones masivas). (Baker *et al.*, 2003).

Su característica principal de *H. contortus* es causar un estado de anemia, ya que tanto las larvas de cuarto estadio como los adultos son hematófagos y se calcula que en un animal la pérdida media de sangre es de 0.05 ml por parásito por día (Roger *et al.*, 2001)

2.3.6 Biología de las larvas infestantes

En el pasto, las larvas L3 de los NGI poseen una vaina que es un vestigio de la cutícula de la L2. Por la presencia de esta vaina, las L3 son más resistentes a las condiciones exteriores (O'Connor *et al.*, 2006). La sobrevivencia de las L3 depende de la especie de parásito, de las condiciones climáticas y del ambiente externo (O'Connor *et al.*, 2006). En general, las L3 de *H. contortus*, sobreviven de 10 a 15 semanas en la primavera, mientras que durante el periodo seco y caluroso este periodo se acorta a 3 o 4 semanas. Los musgos y las materias fecales ofrecen condiciones óptimas para la sobrevivencia de las L3, por la creación de condiciones micro-climáticas favorables. Además de los

factores físicos, las larvas L3 son muy resistentes a los agentes químicos o biológicos. Sin embargo, estas larvas son presas o sustratos naturales de otros organismos bacterianos (*Bacillus thuringiensis*) o ciertos hongos calificados como nematófagos (*Duddingtonia flagrans*) (Mendoza *et al.*, 1998; Larsen, 2000; Fontenot *et al.*, 2003; Chandrawathani *et al.*, 2004).

Las L3 son muy móviles y se desplazan horizontal y verticalmente sobre la hierba siguiendo un hidrotropismo positivo (en busca de la humedad), un fototropismo negativo (huyen fuertemente de la luz) y un geotropismo negativo (Euzéby, 1963). Este movimiento favorece la ingestión de los animales de cantidad considerable de larvas y por tanto lograr la parasitación de los rumiantes. Sin embargo, estos movimientos constantes son perjudiciales para la sobrevivencia de las L3 ya que estas son incapaces de nutrirse, por lo que agotan sus reservas energéticas en esos movimientos (O'Connor *et al.*, 2006).

La infestación del hospedero por las L3 se inicia con el desenvainamiento. Este fenómeno ocurre en el órgano digestivo que le antecede. De este modo, las larvas L3 de las especies abomasales se desenvainan en el rumen, mientras que las especies intestinales en el abomaso. El desenvainamiento ocurre de 60-80 minutos después de la ingestión de la larva infestante (Dakkak *et al.*, 1981; Hertzberg *et al.*, 2002).

2.3.7 Nivel de parásitos en las pasturas

El nivel de larvas infestantes depende del grado de desarrollo de los huevos eliminados por medio de las excretas y de su tasa de mortalidad, lo cual está relacionado directamente con cada especie y de cada estadio de nematodo, a la tasa de degradación de las excretas y la desecación ambiental. Por otro

lado, la mayor densidad de larvas en los pastos se halla por debajo de los 15 cm a partir del suelo, y a menor disponibilidad y altura del pasto, mayor es la infestación de los animales. La temperatura y humedad influyen en diferente grado sobre los parásitos, siendo el huevo embrionado y la larva infestante los más resistentes (Andersen y Levine 1979).

2.3.8 Consecuencias de las estrogilosis gastrointestinales en los rumiantes

Las consecuencias de la infestación por estróngilos gastrointestinales difieren según la tasa de infestación del hospedero. En general, las estrogilosis digestivas evolucionan de una forma crónica, de expresión subclínica y provoca serios daños económicos. En el caso de infestaciones masivas, el parasitismo de NGI puede mostrar signos clínicos visibles, conllevando en muchos casos a la muerte de los animales más susceptibles. (Morales *et al.*, 2005).

El grado de estas consecuencias depende de factores ligados al hospedero (especie, edad, estado fisiológico o nutricional) o a los parásitos (cantidad de parásitos, cantidad de otros parásitos en órganos del sistema digestivo), aunque el nivel de infestación (carga global parasitaria) sigue siendo el factor más importante (Morales *et al.*, 2005).

2.3.9 Impacto sobre las producciones

Una de las limitantes a los cuales se enfrenta los ovinos explotados bajo condiciones de pastoreo extensivo, son la disponibilidad de nutrientes que requieren los ovinos para que expresen su potencial zootécnico. Asimismo, dentro de las zonas potreros en donde se encuentran pastoreando están presentes unos enemigos silenciosos que son los nematodos gastrointestinales, dichos parásitos son alojados en diferentes partes del

organismo de los animales que producen pérdidas de peso, anemias progresivas debida a nematodos hematófagos, y en el peor de los casos debido a las altas cargas de parásitos los animales llegan a morir.

El parasitismo por los NGI son responsables de un retardo del crecimiento en los ovinos y caprinos jóvenes (Kyriazakis *et al.*, 1996) que se traducen en disminuciones del peso de sacrificio de los animales, combinado con la disminución de la calidad de las canales y las carnes (Sykes y Coop 1977).

2.4. Pérdidas económicas

En términos económicos, los estrongílicos gastrointestinales son reconocidos a escala global como uno de los primeros estudios de los rumiantes, debido a las pérdidas económicas que ellos ocasionan. En los sistemas productivos de pequeños rumiantes, la presencia de estos parásitos perturba a la vez la cantidad y la calidad de sus producciones (Mileydy, 2013).

El parasitismo gastrointestinal conforma una de las patologías más significativas de los pequeños rumiantes, por estar comprometido con la disminución de la fertilidad y muerte de animales jóvenes, además de tener efectos negativos sobre la tasa de crecimiento y la producción de leche y lana, como la secuela de los trastornos fisiológicos que ocasiona (Morales *et al.*, 1998).

Sobran estudios diversos que manifiestan la importancia de la parasitosis gastrointestinal, tanto en bovinos como ovinos. La manifestación subclínica abunda, ocasionando pérdidas insidiosas y apenas observables clínicamente (Bulman, 2012).

En Argentina, las investigaciones se desarrollaron casi todos en la Patagonia, donde se expresó en un medio de reducida contaminación el impacto del control sobre producción de lana y largo de mecha, así como también el peso y conformación del cordero a la faena.

En Uruguay, diversos estudios indicaron la importancia del control del parásito *Haemonchus contortus* en ovejas al parir, que usualmente sufren en el posparto y primera lactancia un cuadro denominado relajación peri parturienta de inmunidad, en el cual los efectos de este parásito del abomaso o estómago glandular, se exacerban. Se observa en ovejas pastoreando sobre pasturas con una mediana a alta contaminación de Larvas 3 infestantes, con un pico de enfermedad con diarrea, presentación súbita, alta morbilidad y hasta muertes. Se imputa esa presentación a una súbita disminución de la inmunidad por el estrés del parto y la lactancia. (Bulman, 2012).

En términos económicos, los estrongílicos gastrointestinales son reconocidos a escala global como una de las primeras patologías de los rumiantes, debido a las pérdidas económicas que ellos ocasionan. En los sistemas productivos de pequeños rumiantes, la presencia de estos vermes (gusanos redondos) perturba a la vez la cantidad y la calidad de sus producciones.

El parasitismo por los NGI son responsables de un retardo del crecimiento en los ovino jóvenes (Kyriazakis *et al*, 1996, Torres Acosta, 1999) que se traducen en reducciones del peso de sacrificio de los animales, combinado con la disminución de la calidad de las canales y las carnes (Sykes *et Coop*, 1976 *et al* 1977).

2.5 Cuadro clínico de los estrogilidos gastrointestinales

2.5.1 Diagnóstico

La hemoncosis, causada por el nematodo del abomaso de rumiantes *Haemonchus contortus*, constituye una de las enfermedades parasitarias más notables del ganado ovino en todo el mundo. Las infecciones provocan síndromes anémicos y de mala digestión/absorción que pueden causar la muerte en los casos agudos y disminución de la producción en las formas crónicas. Las claves principales para la aparición de esta enfermedad son el comportamiento biológico del helminto, su patogenia, además de la respuesta del hospedador. El conocimiento actualizado de estos aspectos permitirá una mayor eficiencia de los métodos de diagnóstico y control del proceso y, como consecuencia, la disminución de los riesgos de aparición de esta enfermedad (Angulo-Cubillán *et al.*, 2007).

La evolución generalmente crónica de las estrogilosis digestivas conducen a un deterioro del estado general de los animales que pueden conducir a la muerte si no son identificados y tratados oportunamente. Inicialmente, aparecen síntomas generales como pérdida del apetito, una emaciación progresiva, debilidad o signos de desnutrición (Urquhart *et al.*, 1996).

Los signos de gastroenteritis son también acompañados de diarreas agudas, situación muy común en estas infestaciones parasitarias (Rahman et Collins, 1990). Los síntomas más específicos pueden ser constatados con las especies de nematodos presentes (Urquhart *et al.*, 1996; Brugère-Picoux, 2004). Así, la especie hematófaga muestra signos de anemia visible y edemas submandibulares (Smith y Sherman, 1994; Urquhart *et al.*, 1996). Se ha

estimado que una oveja parasitada por 5000 *Haemonchus* pierde el equivalente a 250 mL de sangre al día (Urquhart *et al.*, 1996).

2.5.2 Diagnóstico por mecanismos fisiopatológicos y patogénicos

El parasitismo gastrointestinal constituye una de las patologías más importantes de los pequeños rumiantes, por ser responsable de la disminución de la fertilidad y muerte de animales jóvenes, además de tener efectos negativos sobre la tasa de crecimiento y la producción de leche y lana, como consecuencia de los trastornos fisiológicos que ocasiona. Afortunadamente, la intensidad del parasitismo no es similar en todos los animales de un rebaño, ya que la agregación de los parásitos en el seno de la población de hospedadores es un hecho común que se traduce en que tan sólo una minoría de los individuos parasitados concentra las mayores cargas de vermes, lo cual está asociado a la predisposición individual, a su vez relacionada con factores como edad, sexo, estado fisiológico, constitución genética e interacción de condiciones ambientales- receptividad del hospedador (Morales *et al* 1998)

Una forma de exposición común de la gastroenteritis parasitaria en los rebaños ovinos es la presentación subclínica, en la cual los signos clínicos son levemente manifiestos no obstante, esta presentación es muy importante pues influye directamente, en la reducción de la ganancia de peso, la cual muchas veces no es registrada por el productor. Para poder manifestar esta forma de presentarse la enfermedad y combatirla en el momento apropiado que aparece, es imperativo establecer un sistema rutinario de diagnóstico. A diferencia de la forma subclínica, cuando se sospecha de un problema de parasitosis gastrointestinal en un rebaño, algunos caracteres clínicos son una valiosa

ayuda en el diagnóstico de estas patologías. Casi siempre se presenta debilidad y decaimiento, aislamiento de los animales, pelo hirsuto y pérdida de peso, que puede variar en función de la resistencia de cada animal, llegándose a observar adelgazamiento progresivo, hasta hacerse patente un estado caquético. Adicional se observa la presencia de diarrea acuosa, profusa y fétida; además de anemia, que se manifiesta en diversos grados de palidez de las mucosas, principalmente ocular y gingival, y la presencia de edemas subglosiano (Cuello de botella). En cuadros extremos puede ocasionar la muerte de algunos animales, que en la necropsia presentan en el tracto gastrointestinal una gran cantidad de parásitos (Arece, 2005).

2.6 Métodos de control parasitario

El conocimiento del creciente desarrollo de resistencia a las drogas antihelmínticas de síntesis, los investigadores está enfocado en reactualizar y desarrollar métodos alternativos de lucha contra los NGI. Estos métodos se apoyan en tres principios generales de prevención y tratamiento dirigidos a: 1) Reducir el origen o fuentes de contaminación, 2) Aumentar la resistencia de los hospederos y, 3) Eliminar los parásitos (Torres-Acosta y Hoste, 2008).

Al instante de realizar la desparasitación, se sugiere conservar el criadero en un corral, desinfectando las excretas luego de aislado el grupo, con el fin de evitar una nueva infestación. En caso de contar con un potrero de “reserva” realizar la desparasitación y mantener los animales allí por dos a tres días con la finalidad de que los mismos eliminen los huevos/larvas en un solo sitio, luego se recomienda dejar el lugar sin ser usado por unos dos o a tres meses, desecando al sol las heces de los animales (Felice, 2015).

El conocimiento del creciente desarrollo de resistencia a las drogas antihelmínticas (AHs) de síntesis, los investigadores están enfocados en reactualizar y desarrollar métodos alternativos de lucha contra los NGI. Estos métodos se apoyan en tres principios generales de prevención y tratamiento dirigidos a: i) Reducir el origen o fuentes de contaminación, 2) ii Aumentar la resistencia de los hospederos y, iii) Eliminar los parásitos (Aguilar- Caballero *et al* ,2008).

2.6.1 Control selectivo por la prueba FAMACHA

La técnica de FAMACHA (Malan Chart) ha sido desarrollada originalmente en Suda-frica, para el control de *H. contortus* en ovinos (Barger *et al.*, 1994), en la actualidad se está validando en Brasil, Paraguay, Uruguay y se prosiguen los estudios en Sud-frica (Bath, 2000a; Bath, 2000b; Vatta *et al.*, 2002). Desde hace dos décadas atrás se determinó que la capacidad de desarrollar una fuerte respuesta inmune en *H.contortus* no siempre resulta en la habilidad de sobre llevar los efectos asociados con la infección.

Dentro un rodeo o corral existe una proporción de individuos completamente susceptibles mientras que otros muestran distintos grados de resistencia o tolerancia a los nematodos. La utilización de modelos matemáticos permitió desarrollar la hipótesis de que la resistencia antihelmíntica puede ser dilatada en el tiempo, tratando solo aquellos animales afectados severamente por los nematodos (Barger *et al.*, 1985).

En este caso el refugio de la población sin tratar (larvas en la pradera aportada por los animales no tratados) será el encargado de diluir las poblaciones de los

nematodos resistentes. Sobre este principio fue desarrollada la técnica de FAMACHA, que visualiza los distintos niveles de anemia producida por *H contortus* a través de la coloración ocular de los ovinos. (Van Wky *et al.*, 1997). Como FAMACHA solo detecta anemia, como una manifestación del efecto de *Haemonchus contortus* es una medida de resiliencia que de resistencia (Bisset, 2000).

2.6.1 Control mediante hongos hematófagos

La utilización de microorganismos antagónicos naturales en el control de las parasitosis del ganado es una alternativa que en años recientes ha despertado un gran interés en la investigación en diversos países, cuyo reto es ahora, demostrar que esta metodología en forma alternada con algún antihelmíntico de uso común como el albendazol usado en forma racional, puede ser aplicada exitosamente a nivel de campo con los beneficios sobre los costos de producción, disminuyendo el uso del producto químico y como consecuencia sus desventajas, y sobre todo, evitando el deterioro ambiental que muchos productos químicos causan (Arroyo *et al.*.,2008)

Otras de las formas de controlar a los nematodos gastrointestinales es mediante el uso de hongos, existen más de 200 especies en todo el mundo denominados como hongos hematófagos por ser capaces de utilizar nematodos como fuente de nutrientes (Barrón *et al.*, 1997). De todas las especies que existen de hongos se tiene más importancia sobre los hongos predadores, los cuales han desarrollado órganos especializados para atrapar a las larvas en movimiento.

Los hongos nematófagos, son microorganismos del suelo que poseen la capacidad para desarrollar órganos especializados para capturar y destruir a los nematodos para finalmente nutrirse de sus tejidos. Los principales órganos de captura que se observan en diferentes géneros y especies de hongos nematófagos incluyen: anillos simples y constrictores, anillos tridimensionales, ramas y conidios adhesivos. Los hongos pueden ser producidos en el laboratorio en medios nutritivos (Arroyo *et al.*, 2008).

La especie que ha producido mejores resultados en el control de parásitos de rumiantes es *Duddingtonia flagrans*; esta especie, produce una gran cantidad de clamidosporas resistentes a los procesos digestivos, y una vez que han sido administradas en los animales, son finalmente eliminadas al medio ambiente junto con las heces, se colonizan la materia fecal capturando y destruyendo a la población de larvas de nematodos rompiendo el ciclo biológico de estos parásitos e impidiendo la diseminación de larvas infectantes en los potreros, y finalmente disminuyendo considerablemente las cargas parasitarias en los animales (Arroyo *et al.*, 2008).

En términos práctico, para una especie de hongo nematófago pueda ser utilizada como un agente biológico de control, este tiene que ser capaz de pasar por el tracto gastrointestinal de los rumiantes sin ser destruido y luego en el ambiente de germinar, crecer, atrapar y destruir nematodos en las heces. De lo que cabe los mayores esfuerzos de investigación han sido puestos en *Duddingtonia flagrans*, es una especie de amplia distribución mundial, cuyas esporas han demostrado tener capacidad superior para atravesar el tracto gastrointestinal (Larsen *et al.*, 1992; Mendoza de Gives *et al.*, 2010).

Destinado a combatir los estados libres de nematodos que se encuentran en la materia fecal de los ovinos, caprinos, equinos y cerdos (Larsen, 1999; Mendoza de Gives *et al.*, 2010). La utilización estratégica de clamidosporas de *D. flagrans* en el alimento, luego el pasaje por el tracto gastrointestinal, esto produce una red de aspecto tridimensional, que atrapan a las larvas y las destruyen. Se estima que la aplicación correcta de este tipo de tecnología no producirá una eliminación total de la población larvaria, pero permite un gradual aumento de la inmunidad con una menor dependencia de los antihelmínticos (Barnes *et al.*, 1995).

2.6.2 Reducir las fuentes de contaminación de los animales (Gestión ambiental)

Los individuos más receptivos o susceptibles a los parásitos son de una gran importancia epidemiológica por su rol como contaminadores ambientales, por lo cual es de sumo interés su registro en el rebaño, para el perfeccionamiento de estrategias de control de las parasitosis, en vista de que su tratamiento selectivo garantizaría la exclusión de un alto porcentaje de parásitos del sistema hospedador-parásito y por consiguiente, una rápida disminución de la contaminación ambiental con las formas de diseminación de dichas poblaciones de parásitos (Morales, 1998).

Este método está dirigido a bloquear el ciclo biológico de los NGI y su importancia, se manifiesta en las larvas del tercer estadio en el medio exterior a fin de limitar al máximo los riesgos de contacto entre las L3 y los hospederos susceptibles (Hoste *et al.*, 1997).

Diversas técnicas que han resultado ser poderosas en disminuir la contaminación de larvas infectantes de parásitos gastrointestinales en praderas

incluyen el pastoreo alternativo, por ejemplo entre ovinos y bovinos (Efecto aspiradora), rotaciones de ovinos con cultivos o descanso de las praderas dentro de las estaciones del año, teniendo un lapso de tres meses entre cada cambio de categoría (Felice, 2015).

El objetivo de este método está dirigido a bloquear el ciclo biológico de los NGI y su importancia se manifiesta en las larvas del tercer estadio (L3) o larvas infestantes en el medio exterior (reducción de la infestación de las áreas de pastoreo), a fin de limitar al máximo los riesgos de contacto entre las L3 y los hospederos susceptibles. Estos objetivos se pueden lograr mediante tres métodos principales (Barger *et al.*, 1999).

2.6.3 La prevención

Consiste en llevar los animales sanos, libres de parásitos a áreas de pastoreo no contaminadas, como por ejemplo áreas post cosechas o áreas marginales como guardarrayas de áreas cañeras u otro tipo de cultivo como los sistemas silvícolas.

2.6.4 La evasión

Se trata de la transferencia de animales tratados con HAS de praderas contaminadas a áreas de pastoreo de baja carga parasitaria como las mencionadas anteriormente.

Estos principios de prevención o de evasión suponen la disponibilidad de áreas de pastoreo libres de parásitos o de bajos niveles de infestación. Un medio para tener este tipo de praderas es tener prolongados periodos de reposo que permita la muerte natural de las L3 presentes en la hierba antes que los animales retornen a la misma parcela. Este proceso adquiere mayor

importancia en las zonas tropicales en la que la duración media de las L3 es más reducida (alrededor de dos meses) comparado con climas templados (vida promedio de 6 a 12 meses). (Barger *et al.*, 1999).

La dilución que va dirigida a reducir el riesgo de infestación por las L3 en disminución de su concentración en el pastoreo.

La dilución de la infestación del pastoreo puede ser considerado con lograr una disminución de la densidad de animales, Sin embargo, la mezcla de animales susceptibles y resistentes según criterios como la edad, el pastoreo mixto, alternado o simultáneo, entre dos especies de hospederos que muestren diferencias de especificidad hospedadora para los NGI (Barger *et al.*, 1999).

Por otro lado, una reducción activa de la infestación parasitaria puede ser obtenida a través del uso de métodos químicos, pero también físicas (explotación de pastoreos de áreas pos cosechas. También se pueden usar medios de lucha biológicos en los que la mayoría de los estudios se han concentrado en las propiedades nematófagos de determinados hongos microscópicos (ej. *Duddingtonia flagrans*) que capturan las L3 entre su micelio, favoreciendo así la contaminación de las áreas de pastoreo

2.7 Mejorar la resistencia de los hospederos

Hasta la fecha se ha enfatizado en tres estrategias fundamentales dirigidas a mejorar la resistencia (natural o adquirida) de los hospederos, 1) El desarrollo de vacunas, 2) La selección de animales resistentes a los NGI y, 3) Mejora de la nutrición del hospedero.

2.7.1 La resiliencia

La resiliencia es la capacidad de los animales de estar parasitados (soportar el parasitismo) y mantenerse productivos (Armando Jacinto *et al.*, 2008).

2.7.2 La resistencia

La resistencia es la capacidad de los animales de controlar a sus poblaciones parasitarias

La resistencia está basada en estrategias inmunológicas que el animal puede traer en su código genético o desarrollarse con el enfrentamiento a diario con los NGI (Armando Jacinto *et al.*, 2008).

Pero la eficacia de estos mecanismos está influenciada por la edad de los animales la etapa fisiológica la genética el parásito en discordia y las condiciones ambientales predominantes (Armando Jacinto *et al.*, 2008).

2.8 Mejora de la nutrición del hospedero

La presencia de los estrongídeos gastrointestinales en el tracto gastrointestinal está asociada con lesiones y perturbaciones severas de la fisiología digestiva que inducen grandes consecuencias en el metabolismo del hospedero, principalmente sobre la fracción proteica y, en menor magnitud la fracción energética. Partiendo de esta constante, se sugiere que la mejoría de la ración alimentaria en la cual el hospedero pueda cubrir sus necesidades suplementarias asociadas con la presencia de los parásitos, será posible mejorar de ese modo la respuesta del hospedero al parasitismo, en particular aquellos que son factores limitantes en la ración (Coop *et al.*, Kyriazakis, 2001). Es reconocido que en general el metabolismo proteico es el más afectado por el parasitismo gastrointestinal que el metabolismo energético. (Coop *et al.*,

Kyriazakis, 2001). En consecuencia, la mayoría de los estudios han estado dirigidos a obtener beneficios eventuales unidos a una suplementación proteica, que ha sido confirmado en la mayoría de las ocasiones dicho enfoque (Coop *et al.*, Kyriazakys, 2001). Sin embargo, determinadas ocasiones, la presencia de leguminosas como fuente nutricional en zonas tropicales, además como fuentes complementarias energéticas son de igual manera eficaces en el control parasitario (Torres Acosta *et al*, 2008).

2.8.1 La vacunación

El principio de la vacunación consiste en poner en contacto preventivo al hospedero con dosis de antígenos parasitarios para estimular sus defensas inmunitarias y así protegerlos de las infestaciones futuras por los NGI. El concepto dirigido a encontrar vacunas eficaces para el control de los NGI en rumiantes no es una tarea reciente, sino que desde el año 1960 se desarrollaron para validar el empleo de L3 irradiadas de *Contortus*. Para proteger los animales (Mulligan *et al.*, 1989).

2.8.2 Selección de animales genéticamente resistentes

La selección de animales resistentes a los NGI es un enfoque que ha sido acogido fuertemente para reducir el empleo de AHs sintéticos y se basa en la selección de los animales más resistentes; este concepto se ha desarrollado incluso entre razas. Un proceso consistente de selección aplicado durante varios años debe conducir a una teoría de reducción de infestación en los hospederos y una disminución progresiva de la disminución de las áreas de pastoreo (Baker *et al.*, 1998).

La resistencia genética, basada en la existencia de un componente genético en los rumiantes ya sea entre razas o entre individuos de la misma raza el uso de medidas fenotípicas para la carga parasitaria puede resultar en tener animales resistentes (Hunt *et al.*, 2008). Los marcadores basados en DNA para la resistencia parasitaria, pueden ser por lo tanto potencialmente identificados por que la resistencia parasitaria tiene un componente genético significativo que puede ser distinguido de los componentes ambientales variantes de esta característica (Hunt *et al.*, 2008). Estos marcadores genéticos deberían ser incluidos en los sistemas de producción bajo un programa de selección estricto y focalizado para otorgar los genes de resistencia a los NGI (Behnke *et al.*, 2009).

2.8.3 Inmunidad del ovino ante los helmintos

La respuesta del hospedador frente a la intrusión por un parásito consiste en una respuesta natural en una respuesta inmunitaria de tipo adaptativo. Mientras que la respuesta natural es similar e independiente del parásito y no se altera en encuentros sucesivos, la respuesta adquirida tiene dos importantes características: la especificidad y la memoria celular (Cordero del Campillo, 1999).

Los caprinos adquieren inmunidad contra los NGI como resultado de la exposición repetida a los antígenos de referencia. Los mecanismos de la inmunidad contra los diferentes NGI son únicos y adaptados a los diferentes estadios del ciclo biológico (Armando Jacinto *et al.*, 2008).

2.8.4 Inmunidad innata

La inmunidad innata es aquella con la que cuenta el individuo desde su nacimiento, recientemente se ha reconocido la importancia de este fenómeno ya que dependiendo de la fortaleza del mismo se logra una inmunidad adquirida efectiva, esta característica da lugar a los grados de susceptibilidad que muestran las diferentes razas de rumiantes cuando se enfrentan por primera vez a una infección con NGI (Armando Jacinto *et al.*, 2008).

2.8.5 Inmunidad adquirida

La inmunidad adquirida (adaptativa) se refiere a la inmunidad que los animales manifiestan después de una exposición continua al antígeno, la eficacia de la respuesta es mayor en los animales adultos los cabritos y corderos son más susceptibles a las infecciones con NGI, pero con el tiempo llegan a desarrollar una inmunidad fuerte, sin embargo, estos presentan las infecciones más severas y los peores efectos patogénicos de la infección así también, presentan las mayores cargas de HPG. Las cabras y ovejas adultas por su parte, ya que han desarrollado inmunidad normalmente excretan las menores cargas parasitarias (Armando Jacinto *et al.*, 2008).

En los rumiantes, se ha determinado que el desarrollo del sistema inmunitario contra la parasitosis es deficiente. Una de las características del fortalecimiento inmunitario son las reacciones para el control de los parásitos (Tizard, 2009).

Se ha establecido que el sistema inmunitario es perjudicado por los parásitos debido a que son organismos que se han adaptado a una existencia parasitaria forzosa esto implica que deben enfrentar el sistema inmunitario, para superarlo o evitarlo. Los helmintos parásitos no son organismos patógenos mal

adaptados, sino parásitos obligados y bien adaptados; su supervivencia depende de la adaptación con el hospedador (Tizard, 2009).

Estos ocasionan morbilidad y mortalidad sólo en casos clínicos agudos cuando los helmintos invaden al hospedador al cual no se han adaptado por completo o cuando la cantidad de gusanos es enorme (Tizard, 2009).

Estos sucesos en el animal se pueden deber a factores genéticos, ambientales, conductuales y nutricionales. Por lo cual puede reflejar diferencia en la exposición, susceptibilidad o resistencia en una población de animales (Tizard, 2009). La resistencia antihelmíntica ha sido definida como la capacidad heredable de la población parasitaria de reducir su susceptibilidad a la acción de una o más drogas. Esta reducción se expresará en un incremento significativo de individuos dentro de una misma población de parásitos, capaces de tolerar dosis de droga que han probado ser letales para la mayoría de los individuos de la misma especie (Bulman, 2012).

2.8.6 Inmunidad específica hacia los helmintos

Los helmintos pueden encontrarse en forma larvaria dentro de uno o varios tejidos o incluso en estadio adulto sexualmente activo, localizados a nivel del lumen digestivo o pulmonar; estos poseen una cutícula extracelular que protege la membrana hipodérmica del Nematodos y en otros helmintos sus cubiertas son de tipo flácido que se desprenden con facilidad cuando son atacados por el sistema inmunitario del hospedador. La respuesta inmunitaria es muy variable con relación a los estadios del helminto parasitario dentro del hospedador. (Tizard, 2009)

2.9 Factores que influyen en la expresión de la inmunidad

2.9.1 Edad y peso de los cabritos

Los cabritos son más susceptibles a las infecciones con NGIT (Torres Acosta *et al.*, 2005). Aunque en algunos casos los animales adultos han mostrado mayores cargas de huevos por gramo de heces y/o de parásitos adultos, en relación al peso del cabrito, se ha mostrado que los cabritos criollos menores a 7 kg PV al destete son más sensibles a las infecciones con NGI y sus efectos patológicos (Armando Jacinto *et al.*, 2008).

2.9.2 Sexo

El sexo de los animales es importante en las infecciones con NGI. Los machos enteros son más sensibles a las infecciones con NGI. Esto como resultado del efecto negativo que tiene la testosterona sobre la inmunidad de los animales (Torres Acosta *et al.*, 2005).

2.9.3 Raza

El efecto de la raza sobre la resistencia genética de los caprinos fue revisado recientemente que las cabras de la raza Jamunapari presentaron una mayor excreción de HPG comparado con la raza Barbari del África. Resultados similares se han observado en razas indígenas de Brasil y en cabras de Angora en Australia entre otras (Armando Jacinto *et al.*, 2008).

2.9.4 Tratamientos alternativos

Estos métodos alternativos se basan en la administración de sustancias con propiedades antiparasitarias que recaen la mayoría del tiempo en la base de la etnoveterinaria en lugar del desarrollo y uso de AHs sintéticos. En este caso se destaca el uso del óxido de cobre que, utilizado en forma de agujas de cobre

metálicas de descarga o liberación lenta, presenta una actividad significativa sobre *H. Contortus*.

La rotación de potreros para disminuir la carga parasitaria (larvas L3), esto tiene como objetivo disminuir las infestaciones de las parcelas a fin de reducir al máximo las posibilidades de contacto del hospedero y las L3 (Martinez Ortiz de Montellano, 2010).

Los hongos nematófagos como *Duddingtonia flagrans* En México se tiene una cepa local y se está evaluando como método de control biológico. La eficacia de *D. flagrans* está relacionada con la etapa de desarrollo del parásito y con la densidad de larvas presentes para estimular la capacidad predadora, así en este estudio con proporciones crecientes de huevos por clamidosporas se obtuvieron reducciones de 37 a 82% y con larvas infectantes las reducciones fueron de 37 a 92%. La cantidad de larvas disminuyó conforme aumentó la cantidad de clamidosporas hasta la relación de 10 clamidosporas por cada huevo (Martinez Ortiz de Montellano, 2010).

El empleo de plantas con propiedades antiparasitarias es otra de las grandes oportunidades para el tratamiento de los NGI. Las plantas Bioactivas, utilizadas como tratamientos fitoterapéuticos o nutraceúticos por sus propiedades antihelmínticas (Rochfort *et al.*, 2008). Los principales componentes de plantas que se han reportado con actividad antihelmíntica contra NGI son: Terpenos, Aromáticos, Alcaloides, Saponinas, Antraquinonas, Enzimas, Ácidos grasos y Taninos (Rochfort *et al.*, 2008).

2.9.5 Enzimas eosinofílicas en la destrucción del parásito

Los eosinófilos son células que se infiltran en los tejidos con infecciones con NGI, estos contienen gránulos llenos de proteínas catiónicas, citosinas pro-inflamatorias y mediadores lípidos los tejidos dañados son el mejor estimulante de atracción para los eosinófilos, así como, la histamina secretada por los mastocitos celulares estas células son la primera línea de defensa contra los NGI, ya que se encargan de evitar el establecimiento de las larvas Cuando las larvas llegan a la mucosa gastrointestinal los eosinófilos se aglutinan y rodean a las larvas L3 para lesionar la cutícula de las mismas ocasionando así su muerte reportaron que a la tercer semana de infectar a caprinos con larvas de *H. contortus* los niveles de eosinófilos se incrementaron en comparación a caprinos no infectados, encontrando en animales sacrificados en este periodo un número elevado de larvas anormales y rodeadas por eosinófilos y linfocitos. En las ovejas los eosinófilos son considerados como un marcador de resistencia genética, sin embargo, en los caprinos los trabajos han mostrado mucha variabilidad (Armando Jacinto *et al.*, 2008).

2.9.6 Leucocitos globulares

Los leucocitos globulares son considerados como mastocitos celulares que han liberado sus gránulos como resultado de la agresión hacia los NGI. En las ovejas se ha reportado correlación negativa entre la cuenta de leucocitos globulares y la carga parasitaria adulta. A diferencia de los ovinos esta es la célula inmune de mayor importancia en los caprinos, estas células son las encargadas de eliminar a los NGI en su fase adulta. Por lo tanto, su acción se observa en las infecciones crónicas (Armando Jacinto *et al.*, 2008).

El eosinófilo puede unirse a los parásitos cubiertos con inmunoglobulinas por la presencia de receptores en su superficie celular. Al unirse este se degranula y libera productos del brote respiratorio como su peróxido, peróxido de hidrógeno y otros radicales libres que producen peroxidasa eosinofílica y enzimas líticas como lisofosfolipasa y fosfolipasa sobre la cutícula del parásito. La proteína básica mayor es el centro cristalino que puede dañar la cutícula de los esquistosomas, fasciola y trichinella en concentraciones bajas; esta proteína eosinofílica catiónica es una ribonucleasa letal para los helmintos. La neurotoxina derivada de los eosinófilos también es una ribonucleasa con leve toxicidad (Tizard, 2009).

Entre los mecanismos de neutralización de los parásitos por anticuerpos es sobre la acción de enzimas proteolíticas que utiliza el parásito para ingresar en el tejido, el que es bloqueado a través de la acción de inmunoglobulinas sobre los poros bucal y anal (Tizard, 2009).

En el ovino, uno de los inmunógenos protectores contra la fasciola hepática es la enzima S-transferasa de glutatión, que puede ser bloqueada por la acción enzimática de las inmunoglobulinas que actúan sobre el estadio adulto del helminto y puede detener la producción de huevos o interrumpir con el desarrollo de algunas estructuras anatómicas (Tizard, 2009).

Se ha demostrado que la ingestión de taninos causa lesiones en el tracto gastrointestinal (TGI) de los herbívoros (Ayres *et al.*, 1997). La presencia excesiva de taninos también afecta el sabor de las plantas por lo que disminuye su palatabilidad y capacidad de consumo, como resultado de la astringencia que estos ocasiona (Jean, Blain, 1998; Bennick, 2002).

2.9.7 Efectos sobre la ingestión voluntaria de alimentos (consumo voluntario)

La masticación de las plantas por los animales provoca el rompimiento de las paredes de las células vegetales por lo que se liberan los TC contenidos en las vacuolas dentro de la boca del animal. Debido a la sensación de astringencia asociada a la presencia de los TC en la boca, se inducen efectos sobre la ingestión voluntaria de los alimentos (consumo voluntario) y además se pueden modificar las funciones ruminales y post ruminales sobre el bolo alimenticio. Sin embargo, para las leguminosas de zonas templadas, cuyo contenido de TC es de bajo a moderado (<4 a 5% de la materia seca) los consumos de alim son escasamente modificados y en consecuencia provocan efectos favorables en el proceso fisiológico digestivo por el efecto protector fundamentalmente de la proteína, convirtiéndola en proteína pasante. (Terrill *et al.*, 1992)

2.9.8 Mejora los indicadores reproductivos

Solo escasos estudios han determinado los efectos potenciales de los TC sobre la reproducción de los rumiantes. La mayoría de ellos han mostrado que el consumo de TC indujo un aumento de la tasa de ovulación de ovejas (Min *et al.*, 2001).

2.9.9 Efectos de los taninos condensados sobre los parásitos gastrointestinales de los rumiantes

Los extractos de plantas que contienen saponinas, pueden disminuir la tensión superficial del huevo y por lo tanto inhibir la eclosión (Hernández-Villegas *et al.*, 2011; Marie-Magdeleine *et al.*, 2009; Camurca-Vasconcelos *et al.*, 2007). Por otra parte, se ha demostrado que los TC reducen el conteo de huevos y la carga parasitaria en ovejas y cabras infectadas. Las plantas que contienen taninos han exhibido actividad antihelmíntica in vitro e in vivo contra NGL,

sugiriendo que los taninos son los responsables de esa actividad (Minho *et al.*, 2008). Desde los inicios de los años 90 los efectos de los TC sobre el parasitismo gastrointestinal de los rumiantes han sido estudiados fuertemente y constituyen una alternativa complementaria al empleo reiterado de AHs sintéticos para combatir las parasitosis digestivas (Niezen *et al.*, 1996).

2.9.10 Eficacia antihelmíntica de extractos

Existen en la actualidad un gran número de estudios *in vitro* aplicados para de plantas ricas en taninos, que constituyen herramientas para la realización de la selección de plantas con propiedades antiparasitarias. De manera general, estas se desarrollan a partir los mismos principios que se evalúan los antiparasitarios sintéticos (Wood *et al.*, 1995).

Estas pruebas *in vitro* poseen como principal ventaja que permite realizar una selección rápida y estandarizada de múltiples muestras. La mayoría de ellas son reproducibles, sensibles y a su vez bastante biables (Jackson y Hoste, 2010). La interpretación de la información obtenida descansa en la hipótesis de un efecto directo de tipo farmacológico de los TC sobre los parásitos. Las concentraciones de TC empleadas a cada test *in vitro* se corresponden con varias gamas de concentraciones de TC medidos *in vivo* (Molan *et al.*, 2003).

2.9.11 Efectos sobre los parásitos adultos

Los estudios sobre los efectos de los TC y de las plantas ricas en este metabolito en las poblaciones de parásitos adultos son mucho más abundantes. Ellos se han desarrollado en condiciones de infestaciones experimentales o naturales y, posteriormente se les suministra el tanino o el follaje de la planta rica en este metabolito.

En términos muy generales, los resultados significativos, en primer lugar se refieren a la disminución de la cantidad de huevecillos de parásitos expulsados por las heces. Según las plantas empleadas y la especie de parásito en cuestión se considera que esa reducción en el conteo fecal de huevecillos se debe a una disminución de la carga parasitaria (Niezen *et al.*, 2002).

También se ha confirmado, en gran medida, con las principales leguminosas forrajeras ricas en TC, que sirven como modelos para diferentes estudios de esta materia en el mundo. En un reducido número de estudios no se apreciaron diferencias significativas en la eliminación de huevos de nematodos (Niezen *et al.*, 2002).

III. JUSTIFICACIÓN

Hoy en día existen evidencias sobre los problemas que generan las diferentes parasitosis en las regiones subtropicales, aunado al uso indiscriminado de los antihelmínticos (Torres-Acosta *et al.*, 2008). Generalmente, los pequeños rumiantes que son explotados de manera extensiva son los más susceptibles a problemas de parasitosis, ocasionadas principalmente por los nematodos gastrointestinales (NGI), debido al manejo nulo de los rebaños. Por lo que se pretende realizar un bioensayo *in vitro* de dos extracto acuoso de (semilla y fruto) de (*Pithecellobium dulce*) *Haemonchus contortus*, para generar información a los productores de ovinos y caprinos, si el fruto o la semilla de esta leguminosa tiene propiedades antihelmínticas. De manera particular en *H. Contortus* es el principal NGI que afecta a los rebaños de ovinos y caprinos manejados bajo condiciones extensivas; ya que estos componentes de la planta forman parte común de la dieta. Se pretende aportar información sobre las propiedades antihelmínticas de la leguminosa bajo estudio *in vitro*. De esta manera generar información que nos permita llevar a cabo un control de parásitos y mejorar la producción animal.

IV. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

¿El extracto del fruto y semilla de *Pithecellobium dulce* tiene actividad ovicida en *Haemonchus contortus* en ovinos?

¿El extracto acuoso del fruto (endospermo y semilla) *Pithecellobium dulce* inhiben la eclosión de huevos de *H. contortus* bajo condiciones *in vitro*?

¿Existe una dosis optima de ambos extractos que maximice la inhibición de huevos de *H. contortus*?

V. HIPÓTESIS

Los extractos acuosos de del fruto *Pithecellobium dulce* (endospermo y semilla) inhiben la eclosión de huevos de *H. contortus* bajo condiciones *in vitro*.

VI. OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar la actividad ovicida *in vitro* de dos extractos acuosos de semilla y fruto de *Pithecellobium dulce* contra *Haemonchus contortus*.

Objetivos particulares

- ✓ Evaluar la actividad de ovicida *in vitro* de un extracto acuoso a base de semilla (PDS) y uno de fruto más semilla (PDFS) de la leguminosa *Pithecellobium dulce* contra huevos de *Haemonchus contortus*.
- ✓ Determinar las concentraciones letales medias (CL50) y altas (CL90) de ambos extractos sobre la inhibición de la eclosión de huevos de *Haemonchus contortus*.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1. Lugar experimental

Este experimento fue realizado en el Laboratorio de Helmintología, en las instalaciones del Centro Nacional de Investigaciones Disciplinarias en Parasitología Veterinaria (CENID-PAVET), del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), ubicado en Jiutepec, Morelos, México.

7.2. Colecta del material vegetativo y preparación de los extractos

Las muestras consistentes en fruto de *Pithecellobium dulce* fueron obtenidas a partir de un árbol de la zona sur del Estado de México, en el Municipio de Amatepec. (Figura 4). Se colectaron frutos frescos los cuales se almacenaron en una hielera y trasladaron al laboratorio de Nutrición Animal del Centro Universitario UAEM Temascaltepec.



Figura 4. Fruto de *Pithecellobium dulce*, común en la zona sur poniente del estado de México

Mil gramos tanto de semilla como de fruto completo fueron sometidos de manera individual a un proceso de molienda en licuadora, utilizando como solvente agua en una relación de 10 g de fruto o semilla: 100 ml de agua (peso: volumen), posteriormente se filtró la solución con manta cielo en cuatro capas. Una vez obtenido el extracto, se congeló a $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ y finalmente se procedió a eliminar el contenido de agua por liofilización (Salem *et al.*, 2006).

7.3. Material biológico

7.3.1. Obtención de huevos de *Haemonchus contortus*

Para la obtención de huevos frescos, se utilizó un ovino donador, infectado artificialmente vía oral (figura 5) con una dosis de 350 larvas L_3 de *H. contortus* por kg de peso vivo. (Liébano, 2004). Las heces se colectaron directamente del recto del animal y posteriormente se filtraron mediante el paso de diferentes tamices (200, 150, 75 y $32\text{ }\mu\text{m}$ de diámetro). En seguida los huevos fueron limpiados a través de gradientes de densidad con una solución de sacarosa al 40 % y por centrifugación a 3000 rpm por tres minutos (Liébano, 2004).



Figura 5. Colecta de heces, de ovino infestado de *Haemonchus contortus*, Campo experimental CENID-PAVET-INIFAP Cuernavaca Morelos

7.4. Diseño experimental

Se utilizaron placas de microtitulación de 96 pozos (figura 6) con cuatro repeticiones por tratamiento y tres replicas (n=12), donde se usó una placa por replica en diferentes tiempos bajo las mismas condiciones de laboratorio (humedad, temperatura y tiempo de incubación), para cada extracto. Los tratamientos fueron las concentraciones de los dos extractos (PDS y PDFS; 25, 12.5, 6.25, 3.12 y 1.56 mg/mL), ivermectina al 0.5% como control positivo (C⁺) y agua como control negativo (C⁻). A cada pozo se agregaron 100 huevos suspendidos en 50 μ L de agua destilada y 50 μ L de extracto o controles, utilizando un volumen final de 100 μ L.

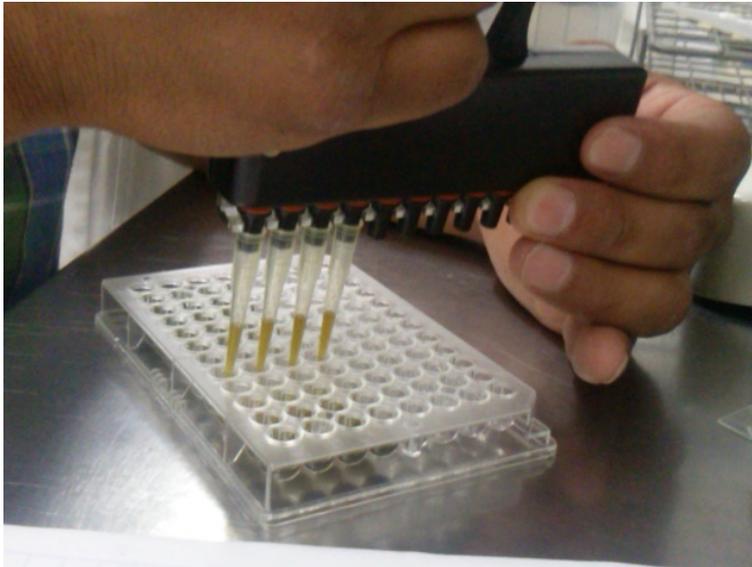


Figura 6. Placas de microtitulación de 96 pozos. Laboratorio *CENID-PAVET-INIFAP* Cuernavaca, Morelos

Posteriormente, las placas fueron incubadas a temperatura ambiente (28 °C), durante 48 horas y en seguida se procedió a contar cada pozo tomando 10 alícuotas de 5 μ L. El porcentaje de inhibición de huevos fue calculado mediante

la siguiente formula: $((\text{número de larvas} / (\text{número de larvas} + \text{número de huevos})) * 100)$. Donde las variables a medir fueron el número de huevos y larvas totales en cada pozo.

7.5. Análisis estadístico

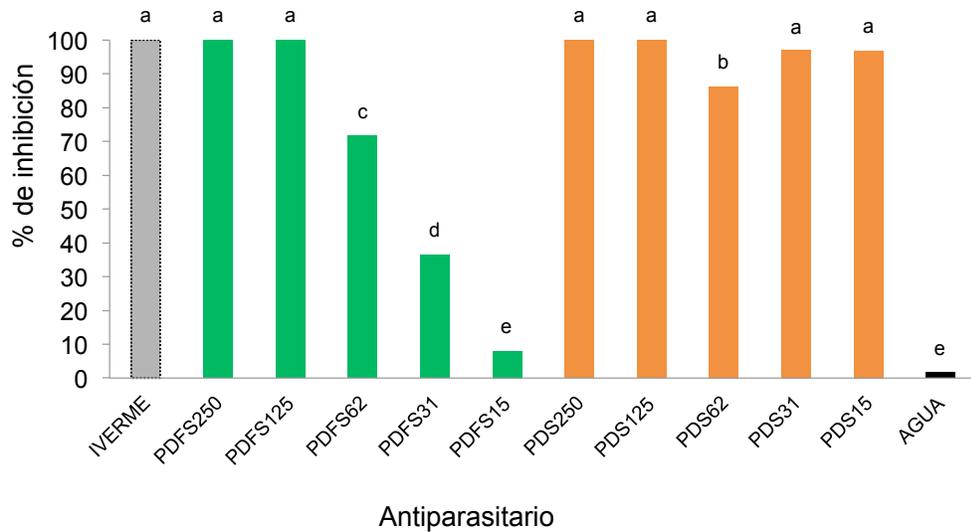
Los datos de cada extracto con sus respectivos controles fueron analizados a través de un análisis de varianza mediante un diseño completamente al azar y para la comparación de medias se utilizó la prueba de Tukey ($P < 0.05$). Asimismo, se calcularon las concentraciones letales mínimas (CL_{50}) y máximas (CL_{90}), mediante el análisis PROBIT. Para el análisis de ambas pruebas estadísticas, se empleó el paquete estadístico SAS (2006).

VIII. RESULTADOS

8.1. Inhibición de la eclosión de huevos de *H. contortus*

En la figura 7, se muestran los porcentajes de inhibición de la eclosión de los huevos.

Figura 7. Inhibición de la eclosión de huevos en *Haemonchus contortus* a diferentes niveles del extracto acuoso de *Pithecellobium dulce* (semilla y fruto completo). Valores expresados en $\mu\text{g/mL}$.



Medias en la misma figura con diferente letra difieren ($P < 0.05$). Error estándar de la media, EEM=3.08. Coeficiente de variación, CV=8.23

El extracto de fruto (PDFS) tuvo una dosis dependiente a la concentración. Los mejores efectos ovicidas ($P < 0.05$), se observaron en las concentraciones de 250 y 125 $\mu\text{g/mL}$. Para el caso del extracto de la semilla (PDS), salvo la

concentración de 62 $\mu\text{g}/\text{mL}$, todas las demás concentraciones fueron similares al control positivo (Ivermectina).

8.2. Concentraciones letales de los extractos PDSF y PDS contra huevos de *Haemonchus contortus*

Las concentraciones letales de ambos extractos se observan en las figura 8, donde las CL_{50} y CL_{90} del extracto PDS fueron de 0.002 y 0.497 mg/mL y para el extracto PDFS fueron de 3.41 y 7.77 mg/mL. Según estos resultados el extracto de semilla, tiene mejores efectos de inhibición y podrían usarse concentraciones inferiores a las utilizadas en este bioensayo. Ambos extractos tienen efectos ovidas con concentraciones inferiores a los 10 mg/mL.

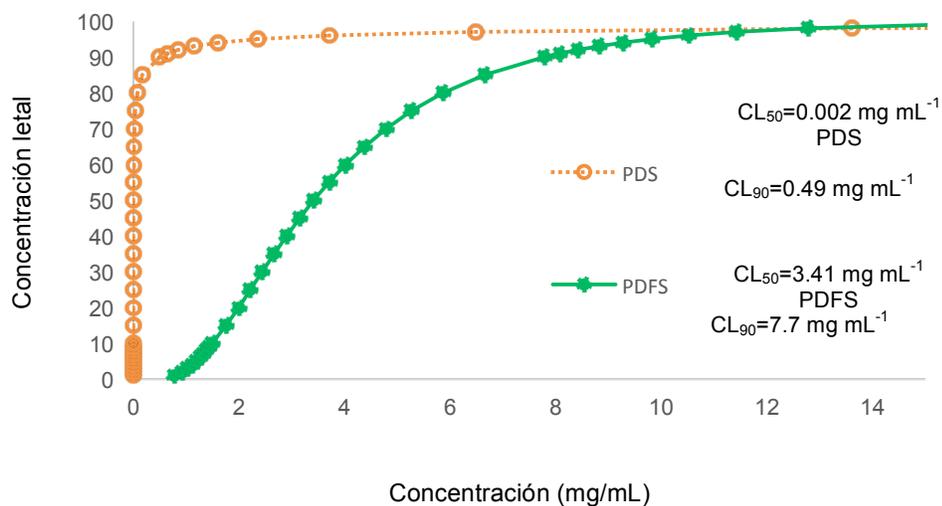


Figura 8. Concentraciones letales del extracto de fruto con semilla y de semilla sobre la inhibición de huevos del nematodo *Haemonchus contortus*

IX. DISCUSIÓN

De acuerdo a los antecedentes, se ha reportado que las leguminosas arbóreas producen metabolitos secundarios que utilizan como defensa contra insectos, plagas o predadores, dichas moléculas comúnmente son saponinas y flavonoides (Acamovic y Brooker, 2005). Estos últimos se les atribuye un efecto antihelmíntico que a ciertas concentraciones, según el tipo de leguminosa pueden servir para controlar a los NIG (von Son-de-Fernex *et al.*, 2012; Olmedo *et al.*, 2014; Olmedo-Juárez *et al.*, 2017; Castillo-Mitre *et al.*, 2017). En la presente Investigación, se evaluaron dos extractos acuosos correspondientes a fruto completo y semilla por separado. En la figura 7 se observan los efectos ovicidas de ambos extractos, siendo el más consistente el extracto de semilla (PDS) en todas sus concentraciones, donde la concentración de 6.25 mg/mL presentó el 86% y el resto de las concentraciones de este extracto obtuvo el 100% de inhibición de eclosión ($P < 0.05$). Para el caso del extracto de fruto con semilla (PDFS), se observó un efecto inversamente proporcional a su concentración; es decir a medida que se aumentaron las concentraciones se incrementó la inhibición de eclosión, indicando que 25 y 12.5 mg/ mL, al igual que la ivermectina inhibieron en un 100% la eclosión de huevos ($P < 0.05$). Estos resultados podrían marcar la pauta para hacer futuras investigaciones sobre el fruto y semilla de esta leguminosa, para conocer el perfil de metabolitos secundarios que tienen propiedades antihelmínticas. Este trabajo refuerza lo que demostraron Olmedo *et al.* (2014), utilizando extractos acuosos de hojas de *P. dulce* sobre la eclosión de una cepa mixta de nematodos gastrointestinales, reportaron inhibiciones por arriba del 60% a concentraciones de 50 y 25 mg/mL. Cabe mencionar que la hoja de esta leguminosa tiene altos

niveles de taninos condensados libres (TCL, 36.6 g/kg MS). Por lo tanto, con base a los resultados obtenidos de este experimento, se sospecha que el fruto y la semilla podrían tener aún más taninos TCL que las hojas.

X. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en el presente trabajo muestran una actividad ovicida importante utilizando concentraciones inferiores 10 mg/mL, en ambos extractos, tanto el fruto completo como en la semilla. Sin embargo, a pesar de la evidente actividad biológica de *P. dulce*, se requiere de hacer ensayos contra el resto de las fases exógenas del parasito *H. contortus* (desarrollo larvario y mortalidad de larvas infectantes L₃), así como experimentos *in vivo*, debido a que hay algunos extractos que solo inhiben la eclosión, pero no afectan a los demás estadios de los nematodos gastrointestinales. No obstante, este tipo de estudios son una herramienta básica para identificar aquellas plantas con actividad antihelmíntica.

XI. LITERATURA CITADA

- Aguilar-Caballero A.J., Torres-Acosta J .F.J., Camara-Sarniento R., Hoste H. Sandoval-Castro C.A. 2008. Immunity against Gastrointestinal Nematode: The Goat History. *Tropical and Subtropical Agro ecosystems*. 9:73-82.
- Alonso-Díaz, M.A.; Torres-Acosta, J.F.J.; Sandoval-Castro, C.A.; Hoste, H. (2010). Tannins in tropical tree fodders to small ruminants: A friendly foe. *Small Ruminant Research*. 89:164-173.
- Alonso-Díaz, M.A., Torres-Acosta, J.F.J., Sandoval-Castro, C.A., Hoste, H., 2011. Comparing the sensitivity of two in vitro assays to evaluate the anthelmintic activity of tropical tannin rich plant extracts against *Haemonchus contortus*. *Veterinary Parasitology*. 181, 360–364.
- Andersen F.L., Levine N.D. 1968. Effect of desiccation on survival of the free living stages of *Trichostrongylus colubriformis*. *J. Parasitol.*, 54, 1: 117 - 128
- Angulo-Cubillán F, García-Coiradas L, Cuquerella M, De La Fuente C, Alunda J. 2007. Relación *Haemonchus contortus*-Ovino: Una Revisión. *SciELO*.17.
- Arece, J 2000. El control integrado del parasitismo gastrointestinal en los rumiantes: la garantía de un rebaño sano. *Pastos y Forrajes* .23:65
- Arece J. 2005. Identificación y comportamiento de los estrongídeos gastrointestinales en ovinos en la provincia de Matanzas. Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Veterinarias. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria. Matanzas, Cuba.
- Arece J, López Y. 2013. Validación del Método FAMACHA en la detección de anemia en ovejas Pelibuey en Cuba. *Pastos y Forrajes* 36:479-484 Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio Hatuey" Matanzas, Cuba.
- Arroyo, B., Fabián, L., Mendoza, G.P., López A.M., Eugenia, Liébano., Hernández, E., Vázquez P.V., Miranda M.E., Ortiz, M. N.,
- Ana, M. 2008. Evaluación de un método combinado de control de la hemoncosis ovina en condiciones controladas. *Técnica Pecuaria en México* 46: 217-223.
- Armando, J., Aguilar, C., J.F.J. Torres, A., Cámara, R.S., Hoste, H., Sandoval, C. 2008 inmunidad contra los nematodos gastrointestinales: la historia caprina. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 9: 73 - 82
- Barger, I. 1985. The statistical distribution of trichostrongylid nematodes in grazin lambs. *International Journal for Parasitology*, 15: 645-649.
- Barger, I.A.1999. The role of epidemiological knowledge and grazing management for helminh control in small ruminants. *International Journal for Parasitology*.29:41-47.

- Barnes, E., & Dobson, R. y. (1995). Worm control and anthelmintic resistance: adventures with a model. *Parasitology today*, 55-63.
- Barron, G. 1997. *The Nematode-Destroying Fungi*. Topics in microbiology No. 1; Canadian Biological publications; Guelph, Ontario/Canada, 140p.
- Baker, R.L. et al. 1998. Resistance of Galla and Small East African goats in the sub-humid tropics to gastrointestinal nematode infections and the periparturient rise in faecal egg counts. *Vet. Parasitology*. 79: 53-64.
- Baker, J.R, Muller, R, Rolinson, D. 2003 *Advances in Parasitology*. D.T.J. Littlewood. 124.
- Bath. 2000a. trial design and requeriments-comemercial farms. FAO TCP Workshop, 40-43.
- Bath. 2000b. Trial design and requirements-Commercial farms. FAO TCP Workshop, 2000: 40-43.
- Behnke, J.M.; Menge, D.M.; Noyes, H. (2009). A model for exploring the biology and genetics of resistance to chronic gastrointestinal nematode infections. *Parasitology*. 136:1565-1580.
- Bissest, S. 2000. Practical ways of implementing identification of host resistance in sheep and its use in breeding programmes. FAO TCP Workshop. sustainable Worm Control Programmmes for sheep and Goats, 16-21.
- Brugère. Picoux, J. 2004. *Maladies des moutons*, 2ème edition. Editions France Agricole. Paris. 287.
- Brunet, S., Fourquaux, I., Hoste, H., 2011. Ultrastructural changes in the third-stage, infective larvae of ruminant nematodes treated with sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) extract. *Parasitology International*. 60, 419–424
- Bulman, Mauricio. 2012. Conferencia: “Perdidas económicas directas e indirectas por parásitos internos y externos de los animales domésticos en Argentina”. *Anales de la Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria*. Buenos Aires. Argentina. 76- 176.
- Camurca-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., 2007. Anthelmintic activity of *Croton zehntneri* and *Lippia sidoides* essential oils. *Veterinary Parasitology*. 148, 288-294
- Castillo-Mitre, G.F., Olmedo-Juárez, A., Rojo-Rubio, R., González-Cortázar, M., Mendoza de Gives, P., Hernández-Beteta, E.E., Reyes-Guerrero, D.E., López-Arellano, M.E., Vázquez-Armijo, J.F., Ramírez-Vargas, G., Zamilpa, A., 2017. Caffeoyle and coumaroyle derivatives from *Acacia cochliacantha* exhibit ovicidal activity against *Haemonchus contortus*. *Journal of Ethnopharmacology*. 204, 125-135.
- Cantú, R.E., Colín, N.M., Contreras, M., García, J. 1989. Estudios sobre la estacionalidad reproductiva de los machos caprinos de las razas Saanen y Alpina. En: *Memorias de la V Reunión Nacional sobre Caprinocultura*. Zacatecas, México. 67p.

- Chandrawathani, P., Jamnah, O., Waller, P.J., Larsen, M., Gillespie, A.T., Zahari, W.M. 2004. Biological control of nematode parasites of small ruminants in Malaysia using the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans*. *Veterinary Parasitology*. 117, 173-183.
- Chartier, C., Etter, E., Hoste, H., Pors, I., Koch, C., Dellac, B. 2000. Efficacy of copper oxide needles for the control of nematode parasites in dairy goats. *Veterinary Research Communications*. 24, 389-399.
- Cordero del Campillo, M. y Col. (1990). *Parasitología Veterinaria*. Editorial McGraw-Hill Intermédica. Madrid, España. pp. 155-192.
- Cordero del Campillo M, Rojo Vasquez F.A. 2001. *Parasitología veterinaria*. McGraw-Hill. Interamericana, 113.
- Dakkak, A., Fioramonti, J., Bueno, L. 1981. *Haemonchus contortus* third-stage larvae in sheep: kinetics of arrival into the abomasum and transformation during ruminomasal transit. *Research in Veterinary Science* 31, 384-385.
- Githiori, J.B., Athanasiadou, S., Thamsborg, S.M. 2006. Use of plants in novel approaches for control of gastrointestinal helminths in livestock with emphasis on small ruminants. *Veterinary Parasitology*. 139, 308–320.
- Govindarajan, M, Rajeswary M Sivakumar R. 2013. Larvicidal y ovicidal efficacy of *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth. (Fabaceae)
- Anopheles stephensi Liston y Aedes aegypti Linn. (Diptera: Culicidae) *Indian J Med Res*. 138:129-134.
- Euzéby, J., 1963. Les maladies vermineuses des animaux domestiques et leur incidence sur la pathologie humaine, tome II: maladies dues aux plathelminthes, fascicule Premier: Cestodes. Vigot frères éditeurs, Paris. 664 p.
- Felice, Mónica. 2015. Control Parasitario en Rumiantes Menores. INTA Ediciones. Estación Experimental Alto Valle. 1-4.
- Fontenot, M.E, Miller, J.E, Pena, M.T, Larsen, M, Gillespie, A, 2003. Efficiency of feeding *Duddingtonia flagrans* chlamydospores to grazing ewes on reducing availability of parasitic nematode larvae on pasture. *Veterinary Parasitology* 118, 203-213.
- Hernández-Villegas, M.M., Borges-Argáez, R., Rodríguez-Vivas, R.I., Torres-Acosta, J.F.J., Méndez-González, M., Cáceres-Farfán, M., 2011. Ovicida I and larvicida I activity of the extracts from *Phytolacca icosandra* against *Haemonchus contortus*. *Veterinary Parasitology*. 179, 100-106.
- Hertzberg, H., Huwyler, U., Kohler, L., Rehbein, S., Wanner, M., 2002. Kinetics of exsheathment of infective ovine and bovine strongylid larvae *in vivo* and *in vitro*. *Parasitology* 125, 65-70.
- Hoste, H. 1997. Strongyloses gastro-intestinales des ruminants: conséquences physiopathologiques et mécanismes pathogéniques. *Le Point Vétérinaire*, 28: 53-59.

- Hunt, P.W., McEwan, J.C., Miller, J.E. (2008). Future perspectives for the implementation of genetic markers on parasite resistance in sheep. *Tropical Biomedicine*. 25:18-33.
- Jackson, F. y Hoste, H. 2010. In vitro methods for the primary screening of plant products for direct activity against ruminant gastrointestinal nematodes. En: In vitro screening of plant resources for extra-nutritional attributes in ruminants: nuclear and related methodologies. Vercoe, P.E., Makkar, H.P.S., Schlink, A.C. (Eds). Springer Science+Business Media B.V., Dordrecht, p. 25-45.
- Kyriazakis, I., Anderson, D.H., Oldham, J.D., Coop, R.L., Jackson, F., 1996. Long-term subclinical infection with *Trichostrongylus colubriformis*: effects on food intake, diet selection and performance of growing lambs. *Veterinary Parasitology* 61, 297-313.
- Larsen, M. 2000. Biological control of helminths. *International Journal of Parasitology*. 29, 139-146.
- Marie-Magdeleine, C., Hoste, H., Mahieu, M., Varo, H., Archimede, H., 2009. In vitro effects of Cucurbita moschata seed extracts on Haemonchus contortus. *Veterinary Parasitology*. 161, 99-105.
- Martinez, O.D.M. 2010 Mecanismos de acción de las plantas ricas en taninos sobre la población adulta de nematodos gastrointestinales de los pequeños rumiantes. Tesis 4-33
- Megalaa J. y Geethab, A. 2012. Acute and sub-acute toxicity study of hydro alcoholic fruit extract of *Pithecellobium dulce*. *Natural Product Research*. 26:1167–1171.
- Mendoza -de Gives, P., Flores-Crespo, J., Herrera, R.D., Vasquez, P V., Liebano, H.E., Ontiveros, F.G.E & Vasquez, P.C (1998) Biological control of Haemonchus contortus infective larvae on ovine faeces using an oral suspensión of Duddingtonia flagrans chlamydo spores. *Journal of Helminthology* 72,343-347.
- Mileydy P.A (2013) Efecto in vitro de extractos acuosos de diferentes plantas en el desarrollo de las fases exógenas de estrogilidos gastrointestinales de ovinos. Tesis 15-40.
- Min, B.R. et al. 2001. The effect of condensed tannins in Lotus corniculatus upon reproductive efficiency and wool production in ewes during autumn. *Animal Feed Science and Technology*, 92: 185-202.
- Minho, A.P., Bueno, I.C., Gennari, S.M., Jackson, F., Abdalla, A.L., 2008. In vitro effect of condensed tannin extract from acacia (Acacia mearnsii) on gastrointestinal nematodes of sheep. *Veterinary Parasitology*. 17, 144-148.
- Molan, A.L. et al. 2003. Effect of flavan-3-ols on in vitro egg hatching, larval development and viability of infective larvae of Trichostrongylus colubriformis. *International Journal for Parasitology*, 33: 1691-1698.

- Morales G, Pino LA, Sandoval E, De Moreno LG. 1998. Evidence for Differential Predisposition to Gastrointestinal Strong lid within adults ewes and goats naturally infected. *Analecta Veterinaria*. 2:1-6.
- Morales G., Pino L.A, Sandoval E, Jiménez D. 2005 Helmintosis Gastrointestinal de los Bovinos en Venezuela. CENIAP 8
- Mulligan, W.1989. The use of irradiated larvae as immunising agents in *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* infections in sheep. *Australian Journal of Agricultural Research*, 12: 1175-1187.
- Nari, A., Hansen, J.W., 1999. Resistencia de los ecto y endoparasitos: soluciones actuales y futuras, 23-33.
- Niezen, J.H. et al. 1996. Controlling internal parasites in grazing ruminants without recourse to anthelmintics: Approaches, experiences and prospects. *International Journal for Parasitology*, 6: 983-992.
- Niezen, J.H. et al. 2002. The effect of feeding sulla (*Hedysarum coronarium*) or lucerne (*Medicago sativa*) on lamb parasite burdens and development of immunity to gastrointestinal nematodes. *Vet. Parasitol.*, 105: 229-245.
- Olmedo, J. A., Rojo, R. R., Arece, G. J., Salem, A. Z. M., Kholif, A. M. Morales, A. E. 2014. *In vitro* activity of *Pithecellobium dulce* and *Lysiloma acapulcensis* on the exogenous development of sheep gastrointestinal strongyles. *Italian Journal of Animal Science*. 13, 303-307.
- Olmedo-Juárez, A., Rojo-Rubio R., Zamilpa, A., Mendoza de Gives, P., Arece-García, J., López-Arellano, M.E., von Son-de Fernex, E., 2017. *In vitro* larvicidal effect of a hydroalcoholic extract from *Acacia cochliacantha* leaf against ruminant parasitic nematodes. *Veterinary Research Communications*. Doi. 10.1007/s11259-017-9687-8.
- O'Connor L.J, Walkden –Brown S.W., Kahn L.P. (2006). Ecology of the free-living stages of major trichostrongylid parasites of sheep. *Veterinary of Parasitology* 142, 1-15.
- Partida De La Peña JA, Varela DB., Jiménez H., Ríos F., Buendía G. 2013. Producción de Carne Ovina. INIFAP México.
- Pechenik J.A1999. The advantages and disadvantages of larval stages in benthic marine invertebrate life cycles.177: 297-199
- Pio-León, JF Díaz-Camacho SP Monte–Ávila J López-Angulo G Delgado-Vargas F. 2013. Nutritional and nutraceutical characteristics of White and red *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth fruits.*Fruits*.68:397-408.
- Quiroz Romero, Héctor.2005. Parasitología y Enfermedades Parasitarias de Animales domésticos. Limusa. 447.
- Rochfort, S., Parker, A.J.,Dunshea, F.R. (2008). Plant bioactives for ruminant health and productivity. *Phytochemistry*. 69:299-322.
- Roger, I., Rodríguez,V., Ligia, A., Cob,G., José, L., Domínguez,A. 2001 Frecuencia de parásitos gastrointestinales en animales domésticos diagnosticados en Yucatán, México. *Biomed* . 12:19-25.

- Rojo, R., López, D., Camacho, L., Rebollar, S., Hernández, J., y Vázquez-Armijo, J. 2008. Taninos condensados de especies arbóreas consumidas por cabras. FCV-LUZ. 18:27.
- SIAP-SAGARPA.20015. financiera nacional de desarrollo agropecuario, rural, forestal y pesquero. SHCP
- Smith, M.C., Sherman, D.M. 1994. Goat Medicine. Lea & Febiger, Baltimore, USA 825 p.
- Soca M, Roque E y Soca M. 2005. Epizootiología de los Nemátodos gastrointestinales de los bovinos jóvenes. Pastos y Forrajes. 28: 177-179.
- Sommerville, R.I., Rogers, W.P. 1987. The nature and action of host signals. *Advances in Parasitology* 26, 239-293.
- Soulsby, E.J.L. (1987). *Parasitología y Enfermedades Parasitarias de los Animales Domésticos*. Editorial Interamericana. México, México DF. pp. 239-259.
- Sway, S.E, Mtui, F.P, Mbise, N.A, Kaaya, E, Sanka, P, Loomu, M.P. 2006. Prevalence of gastro intestinal parasite infections in Maasai cattle in Ngorongoro District, Tanzania. *Livestock Research for Rural Development* 18:8
- Sykes, A.R., Coop, R.L., 1976. Food intake and utilization by growing lambs with parasitic damage to the abomasum or small intestine. *Proceedings of the Nutrition Society* 35, 134-144.
- Sykes, A.R., Coop, R.L., 1977. Intake and utilization of food by growing sheep with abomasal damage caused by daily dosing with *Ostertagia circumcincta* larvae. *Journal of Agricultural Science* 88, 671-677.
- Tapia-pastrana F, Gómez Acevedo S.L. 2005 El cariotipo *pithecellobium dulce* (mimosoideae-leguminosae) *Scielo* 43:1-4.
- Terrill, T.H. et al. 1992. Effect of condensed tannins upon body growth, wool growth and rumen metabolism in sheep grazing sulla (*Hedysarum coronarium*) and perennial pasture. *The Journal of Agriculture Science*, 199: 265-273.
- Tizar, I. (2009); *Inmunología Veterinaria*, 8va Ed. Elsevier, España-Barcelona. Pp. 312-324.
- Torres-Acosta, J.F. 1999. Supplementary feeding and the control of gastrointestinal nematodes of goats in Yucatan. The Royal Veterinary College. University of London, London, U.K.
- Torres-Acosta, J.F., Aguilar-Caballero, A.J. 2005 Control, Prevención y erradicación de la nematodiasis gastrointestinal en rumiantes. In: Rodríguez, V.I., Cob, G.L. *Enfermedades de importancia económica en mamíferos domésticos*. McGraw-Hill. Pp. 161-176.
- Torres-Acosta, J.F; Hoste, H. 2008. Alternative or improved methods to limit gastrointestinal parasitism in grazing sheep and goats. *Small Ruminant Research*, 77: 159-173.

- Torres-Acosta, J.F; Alonso-Díaz M.A Hoste H Sandoval Castro C y Aguilar Caballero A.J 2008. Positive and Negative effects in goat production arising from the intake of tannin rich forage. *Tropical and Subtropical Agro ecosystems* 9:83-90
- Urquhart, G.M., Armour, J., Duncan, J.L., Dunn, A.M., Jennings, F.W. 1996. *Veterinary Parasitology*, 2nd ed, Oxford, UK, Blackwell Science Ltd. 224-234 p.
- Van Wky, J.A. 1997. Production trials involving use of the FAMACHA© system for haemonchosis in sheep: preliminary results, 75:331–345.
- Vázquez, A. M. 1999. *parasitologia Veterinaria*. España: McGRAW-HILL . INTERAMERICANA.
- Waghorn, G. 2008. Beneficial and detrimental effects of dietary condensed tannins for sustainable sheep and goat production-Progress and challenges. *Animal Feed Science and Technology*. 174:116-139.
- Waller P.J., Echeverria, F., Eddi, C., Nari. A., Hansen, J.W. (2006). The Prevalence of antihelmintic resistance in nematodes parasites of sheep in Southern Latin America: General Overview. *Vet. Parasitol.* 62, 181-18.
- Wood, I.B. et al. 1995. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) second edition of guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in ruminants (bovine, ovine, caprine). *Vet. Parasitol.*, 58: 181-213