



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS



CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA
TÍTULO DE TRABAJO DE TITULACIÓN

“Efecto antihelmíntico *in vitro* de extractos de arbustivas ricas en metabolitos secundarios sobre diferentes estadios del ciclo biológico de *Haemonchus contortus*”

AUTOR:

María Mercedes Rodríguez Calle

TUTOR:

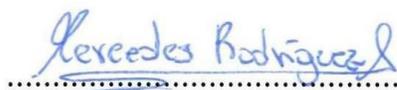
Ing. Gonzalo Aragadvay

Cevallos – Ecuador

2023

AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, María Mercedes Rodríguez Calle, portador de la cedula de identidad 0350009593, libre y voluntariamente declaro que el Informe final del Proyecto de investigación titulado: “Efecto antihelmíntico *in vitro* de extractos de arbustivas ricas en metabolitos secundarios sobre diferentes estadios del ciclo biológico de *Haemonchus contortus*” es original, autentico y personal. En la virtud, declaro que el contenido es de mi sola responsabilidad legal y académica, excepto donde se indican las fuentes de información consultadas.



María Mercedes Rodríguez Calle
CI. 0350009593

DERECHOS DE AUTOR

Al presentar este Informe Final del Trabajo de Titulación: “**Efecto antihelmíntico *in vitro* de extractos de arbustivas ricas en metabolitos secundarios sobre diferentes estadios del ciclo biológico de *Haemonchus contortus*”** como uno de los requisitos para la obtención del título de grado de Médico Veterinario, en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, autorizo a la Biblioteca de la Facultad para que este documento esté disponible para su lectura, según las normas de la Universidad.

Estoy de acuerdo con que se realice cualquier copia de este Informe Final dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica potencial.

Sin perjuicio de ejercer mi derecho de autor, autorizo a la Universidad Técnica de Ambato la publicación de este Informe Final o de parte de él.



María Mercedes Rodríguez Calle

C.I. 0350009593

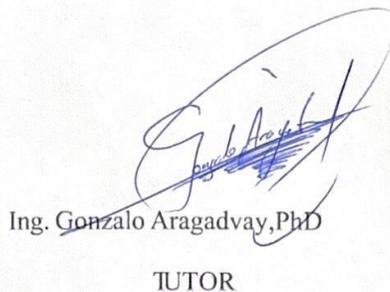
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

“Efecto antihelmíntico *in vitro* de extractos de arbustivas ricas en metabolitos secundarios sobre diferentes estadios del ciclo biológico de *Haemonchus contortus*”

REVISADO POR:



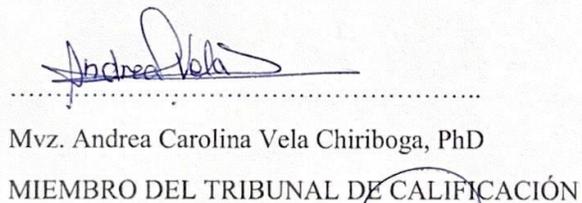
.....
Ing. Patricio Nuñez, PhD.
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN



Ing. Gonzalo Aragadvay, PhD
TUTOR

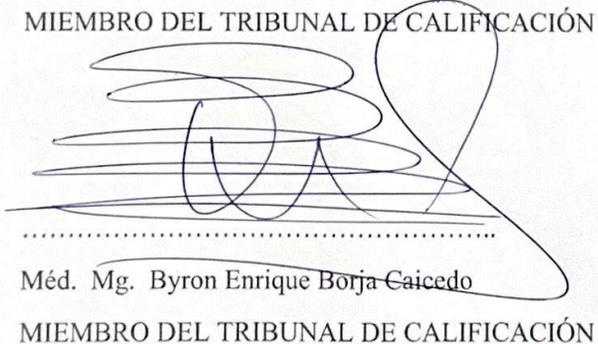
FECHA:

31/08/2023



.....
Mvz. Andrea Carolina Vela Chiriboga, PhD
MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

31/08/2023



.....
Méd. Mg. Byron Enrique Borja Caicedo
MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

31/08/2023

DEDICATORIA

Este trabajo lo dedico con mucho cariño a mis padres Miguel y Mónica que con su amor incondicional me han apoyado siempre durante la carrera, por haber sido un pilar fundamental en mi vida, a mis hermanos Orlando y Daniela que fueron fuente de inspiración y motivación constante, a mis abuelitas María y Julia que siempre estuvieron presentes apoyándome y dándome palabras de amor y aliento.

A mis ángeles; a mis abuelitos Orlando y Rubén y mi Bisabuelita Luisa que desde el cielo en cada momento me guiaron y motivaron para seguir adelante que, aunque no estén conmigo físicamente siempre estarán en mi corazón y en cada logro que alcance.

A toda mi familia que siempre me mostró apoyo y me brindaron palabras de aliento.

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, quiero agradecer a Dios por haberme dado la fortaleza en los momentos más difíciles y la sabiduría para poder realizar este trabajo.

A mis padres por su amor y apoyo incondicional que me brindaron durante toda la carrera, a mis hermanos por estar cuando más los necesite, a toda mi familia que siempre me motivaron a seguir adelante.

A mis compañeros de carrera por compartir conmigo esta experiencia y brindarme momentos inolvidables, a los amigos que hice fuera de la universidad que siempre me dieron su apoyo y palabras de aliento, en especial a Lizbeth que me ayudó en los momentos que más necesité, a Francisco y Glenda por la ayuda que me brindaron durante este proceso.

A todos los docentes de la Facultad de Ciencias Agropecuarias quienes me compartieron su conocimiento para poder desenvolverme en la vida profesional.

A mi tutor el Ing. Gonzalo Aragadvay por su paciencia y sabiduría por compartir conmigo sus conocimientos y ayudarme en la culminación de este proyecto de investigación.

A la Mvz. Andrea Vela, PhD por la paciencia y ayuda que me brindo al momento de la redacción de este informe final.

A la MVZ. Viviana Rodríguez por su ayuda y paciencia dentro del laboratorio por haber estado conmigo brindándome sus conocimientos y poder culminar esta investigación.

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

RESUMEN	xi
ABSTRACT	xii
CAPITULO I.....	1
MARCO TEÓRICO	1
1.1. Antecedentes Investigativos	1
1.2. Justificación.....	5
1.3. Objetivos.....	7
1.3.1. Objetivo general.....	7
1.3.2. Objetivos específicos.....	7
1.4. Hipótesis	7
1.5. Introducción.....	8
1.6. Oveja.....	9
1.7. Sistema de Producción	9
1.8. Parásitos	10
1.9. Nematodos	11
1.10. Clasificación	11
1.10.1. Haemonchus.....	11
1.10.2. Ciclo biológico.....	12
1.10.3. Epidemiología	13
1.11. Compuestos antihelmínticos en las plantas	13
1.12. Albizia Lophantha	13
1.13. Acacia mearnsii.....	14
1.14. Metabolitos secundarios.....	14
1.14.1. Taninos	15
1.14.2. Taninos hidrolizables	16
1.14.3. Taninos condensados.....	16
2.1. Materiales.....	17
2.1.1. Materiales de campo.....	17
2.1.2. Material biológico.....	17
CAPÍTULO II METODOLOGÍA	17

2.1.3. Equipos y materiales de laboratorio	17
2.1.4. Reactivos.....	18
2.2. Ubicación del estudio.....	18
2.3. Modalidad de la investigación	18
2.4. Tipo de investigación	18
2.5. Recolección de la información	19
2.6. Análisis de la información.....	19
2.7. Métodos	19
CAPÍTULO III RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	22
3.1. Resultados	22
3.2. Discusión.....	25
3.3. Verificación de hipótesis.....	27
CAPÍTULO IV	28
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	28
4.1. Conclusiones.....	28
4.2. Recomendaciones.....	28
Referencias bibliográficas.....	30
ANEXOS	36

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1: Inhibición de la eclosión de huevos <i>in vitro</i> de <i>Haemonchus contortus</i> luego de aplicar diferentes concentraciones del extracto de <i>Albizia lophantha</i>	22
Tabla 2: Inhibición de la eclosión de huevos <i>in vitro</i> de <i>Haemonchus contortus</i> luego de aplicar diferentes concentraciones del extracto de <i>Acacia mearnsii</i>	23
Tabla 3: Mortalidad larval luego de aplicar el extracto de <i>Albizia lophantha</i> en diferentes concentraciones (por horas).....	23
Tabla 4: Mortalidad larval luego de aplicar el extracto de <i>Acacia mearnsii</i> en diferentes concentraciones (por horas).....	24
Ilustración 1 Concentración de taninos y fenoles totales de <i>Albizia l</i>	14
Ilustración 2 Recolección de muestras.....	36
Ilustración 3 Técnica de flotación (Willis).....	36
Ilustración 4 Presencia de huevos de <i>Haemonchus contortus</i> en examen coprológico.....	37
Ilustración 5 Huevo de <i>Haemonchus contortus</i>	37
Ilustración 6 Técnica de agar placa para la obtención de larvas de <i>Haemonchus contortus</i>	37
Ilustración 7 Larva de <i>Haemonchus contortus</i>	38
Ilustración 8 Diluciones de <i>Albizia l</i>	38
Ilustración 9 Preparación de las diluciones de los extractos.....	38
Ilustración 10 Diluciones de <i>Acacia m</i>	39
Ilustración 11 Aplicación de los extractos sobre las siembras.....	39
Ilustración 12 Aplicación de extractos sobre siembras de huevos de <i>Haemonchus contortus</i>	40
Ilustración 13 Aplicación de extracto puro de <i>Albizia l</i> en siembra de larvas de <i>Haemonchus c</i>	40
Ilustración 14 Aplicación del extracto de <i>Albizia l</i> 0.04 ml/ml sobre siembra de larvas de <i>Haemonchus c</i>	41
Ilustración 15 Aplicación del extracto de <i>Albizia l</i> 0.08 ml/ml sobre siembra de larvas de <i>Haemonchus c</i>	41
Ilustración 16 Aplicación del extracto de <i>Albizia l</i> 0.12 ml/ml sobre siembra de larvas de <i>Haemonchus c</i>	42
Ilustración 17 Aplicación del extracto puro de <i>Acacia mearnsii</i> sobre siembra de larvas de <i>Haemonchus c</i>	42
Ilustración 18 Aplicación del extracto de <i>Acacia m</i> 0.04 ml/ml sobre siembra de larvas de <i>Haemonchus c</i>	43
Ilustración 19 Aplicación del extracto de <i>Acacia m</i> 0.08 ml/ml sobre siembra de larvas de	

<i>Haemonchus c.</i>	43
Ilustración 20 Aplicación del extracto de <i>Acacia m</i> 0.12 ml/ml sobre siembra de larvas de <i>Haemonchus c.</i>	44

RESUMEN

El uso indiscriminado de los fármacos antiparasitarios contribuye a la resistencia a los mismos. En la actualidad se han buscado alternativas naturales como el uso de metabolitos secundarios como antiparasitarios, tales como los taninos que afectan negativamente la nutrición, movimiento y reproducción de los nematodos gastrointestinales en animales.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto antihelmíntico *in vitro* del extracto hidroalcohólico de dos arbustivas ricas en taninos, a través de su aplicación sobre cultivos de larvas y huevos de *Haemonchus contortus*.

Los extractos de *Albizia lophantha* y *Acacia mearnsii* se aplicaron en 4 concentraciones (T0: extracto puro; T1: 0.04 ml/ml; T2: 0.08 ml/ml y T3: 0.12 ml/ml) se realizaron 4 repeticiones de cada tratamiento y los resultados obtenidos se analizaron con la prueba ANOVA y Tukey en el programa InfoStat versión 2020.

Se evaluó la inhibición de la eclosión como variable de efectividad. Los tratamientos de mayor efectividad con *Albizia lophantha* fueron: T0 con una inhibición del 100% y el T3 con una inhibición del 33% a las 24h, mientras que con *Acacia mearnsii* los tratamientos que presentaron mayor inhibición fueron T0: 100% y T3: 29.5% a las 24h. En cuanto a la sobrevivencia larval con el extracto de *Albizia lophantha* los tratamientos más efectivos con un 0% de sobrevivencia fueron T0 a las 24h y T3 a las 48h, mientras que con el extracto de *Acacia mearnsii* los tratamientos T0 y T3 presentaron un 0% de sobrevivencia a las 24 y 48h respectivamente.

Palabras clave: Resistencia, *Haemonchus contortus*, taninos.

ABSTRACT

The indiscriminate use of antiparasitic drugs contributes to resistance to them. Currently, natural alternatives have been sought such as the use of secondary metabolites as antiparasitics, such as tannins that negatively affect the nutrition, movement, and reproduction of gastrointestinal nematodes in animals.

The objective of this work was to evaluate the *in vitro* anthelmintic effect of the hydroalcoholic extract of two tannin-rich shrubs, through its application on cultures of larvae and eggs of *Haemonchus contortus*.

The extracts of *Albizia lophantha* and *Acacia mearnsii* were applied in 4 concentrations (T0: pure extract; T1: 0.04 ml/ml; T2: 0.08 ml/ml and T3: 0.12 ml/ml) 4 repetitions of each treatment were performed and the results obtained were analyzed with the ANOVA and Tukey test in the InfoStat 2020 version program.

The inhibition of hatching was evaluated as an effectiveness variable. The most effective treatments with *Albizia lophantha* were: T0 with a 100% inhibition and T3 with a 33% inhibition at 24h, while with *Acacia mearnsii* the treatments that showed the highest inhibition were T0: 100% and T3: 29.5% at 24h. As for larval survival with the *Albizia lophantha* extract, the most effective treatments with 0% survival were T0 at 24h and T3 at 48h, while with the *Acacia mearnsii* extract the T0 and T3 treatments presented 0% survival at 24 and 48h respectively.

Keywords: Resistance, *Haemonchus contortus*, tannins.

CAPITULO I

MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes Investigativos

En 2016, Chicaiza y colaboradores realizaron una investigación sobre el efecto antihelmíntico *in vitro* de la *Albizia lophantha* sobre nematodos gastrointestinales en caballos. El estudio probó 4 tratamientos con diferentes concentraciones del extracto (T1 0mg; T2 0,04 mg/ml; T3 0,08 mg/ml y T4 0,12 mg/ml), se obtuvo como resultado una inhibición de la eclosión de huevos del 11% en el T3 y 43% en el T4, con una diferencia bastante significativa con respecto a los demás tratamientos. En cuanto a la mortalidad larvaria se menciona que los tratamientos T3 y T4 presentaron mejores resultados, en el tratamiento T4 a las 36 horas se dio una mortalidad larvaria total, a comparación de los tratamientos T1 y T2 en los cuales la menor supervivencia larvaria se dio a las 60 horas. Debido a lo anteriormente expuesto los autores concluyeron que el extracto de *Albizia lophantha* es efectiva contra la eclosión de huevos y produce mortalidad larvaria de los nematodos gastrointestinales en caballos (**Chicaiza-Tisalema et al., 2016**).

En otra investigación realizada por (**MOLANO et al., 2019**) en Colombia se usaron los extractos etanólicos de *M. azadarach L.*, *C. ambrosioides* y semillas de *C. papaya* en concentraciones de 100 mg/mL, 50 mg/mL, 25 mg/mL y 5 mg/mL para inhibir el desarrollo de larvas en estadio L3 de parásitos gastrointestinales de los ovinos: *Haemonchus*, *Ostertagia*, *Trichostrongylus*, *Cooperia*, *Bunostomum*, *Oesophagostomum*. En dichos extractos se identificaron metabolitos secundarios como saponinas, flavonoides y alcaloides. Se estableció una relación entre la concentración y el efecto observado, afectando la migración larvaria, entre los extractos de *M. azadarach* y *C. ambrosioides* en la concentración de 5mg/ml se observó una diferencia significativa ($p \leq 0,05$). La concentración de 100mg/ml mostro un efecto significativo entre las plantas y se diviso que los extractos de *M. azadarach* y *C. ambrosioides* tiene un porcentaje mayor a 74% en migración larvaria. Se concluye que el extracto de *Chenopodium ambrosioides* es el que

mayor efecto tuvo sobre la migración larvaria y contra las larvas L3.

(**Sandoval et al., 2019**) realizaron un artículo con el objetivo de evaluar el efecto del suplemento de taninos concentrados sobre los nemátodos gastrointestinales en pequeños rumiantes. Para esto se hicieron dos grupos en el primero con 6 cabras y el otro con 4 ovejas, cada uno con pastoreo de alfalfa. A un grupo no se le administró tratamiento, pero fueron suplementados con maíz molido (GST) y el otro grupo se le suministró el suplemento más 25g de taninos condensados (GTC). Se realizaron conteos de hpg y coprocultivos cada dos semanas durante tres meses. Ni en las cabras ni ovejas se observaron signos clínicos que indiquen presencia de gastroenteritis verminosa durante el tiempo de experimentación. En los primeros 3 muestreos la cantidad de hpg fueron similares entre los 2 tratamientos, luego los hpg del GST tuvieron una tendencia más baja que los GTC, pero este no fue significativo. Basándose en los análisis de los resultados se concluyó que la dosis de 25g de taninos no es una dosis efectiva ya que no presentó un efecto antihelmíntico.

En una investigación realizada por (**Hoste et al., 2022**) se explica que en estudios anteriores se ha demostrado que diferentes forrajes de leguminosas contienen taninos condensados pueden ser considerados como una gran opción para controlar nematodos gastrointestinales en rumiantes, lo que ayudaría a abordar el problema la resistencia a antihelmínticos sintéticos. Esta investigación se hizo *in vivo* e *in vitro*, con los subproductos agroindustriales de nueces, cortezas de frutos tropicales y templadas, algarrobo, café y cacao. El principal objetivo de este trabajo fue demostrar la disponibilidad mundial de los subproductos que contienen taninos, también se quiso ejemplificar los diferentes modos de aplicación de estos recursos su valor nutricional y el consumo voluntario de alimento por parte de los animales como cabras, ovejas y bovinos. Al usar esto subproductos se presentan varios pros y contras, como pro se tiene su actividad antihelmíntica, el bajo costo y su disponibilidad, como contra se explica la poca aceptación que tienen estos productos por parte de los animales en las dietas debido a su palatabilidad.

Torres y colaboradores en el 2008 evaluaron los efectos positivos y negativos del consumo de forrajes ricos en taninos en la producción de caprinos. Los autores mencionan que se debe tener en cuenta los efectos negativos del uso de esos taninos como puede ser la presencia de metabolitos tóxicos, la presencia de compuestos anti nutricionales, el exceso o la deficiencia de algún nutriente y el incremento del uso de energía para la masticación y digestión de la planta. De igual manera existen también resultados positivos al usar taninos en concentraciones adecuadas. Uno de ellos es la acción directa o indirecto sobre los parásitos gastrointestinales. Otro aspecto positivo es su actividad anti timpánica ya que ayudan a reducir la fermentación ruminal disminuyendo la producción de gases. Otro beneficio de estos compuestos es que se unen a las proteínas y las protegen de la degradación ruminal, ocasionando que una mayor cantidad de aminoácidos lleguen al abomaso y sean absorbidos. Antes del uso de los taninos, los autores recomiendan determinar una dosis efectiva con la cual se obtenga el efecto esperado y no afecte el consumo de alimento y su digestión.

En el año 2022 Greiffer y colaboradores realizaron una investigación en la que se evaluó la actuación de los taninos condensados sobre la cutícula de los nematodos. Se usó el extracto de *Combretum mucronatum* sobre *Caenorhabditis elegans* como organismo modelo. Se usó una concentración de 2mg/ml del extracto durante 24 horas y luego los parásitos fueron sometidos a observación microscópica para evaluar los efectos. Se obtuvo como resultado que el extracto provoca alteraciones en la estructura de la cutícula de *C. elegans* además se pudo evidenciar una movilidad reducida de las larvas luego de ser expuestas al tratamiento (**Greiffer et al., 2022**).

En la investigación realizada por Hadi y colaboradores se estudió las actividades antihelmínticas *in vitro* de extractos de plantas arbustivas para larvas de *Haemonchus contortus*, las plantas utilizadas fueron: *Acalypha australis* linn, *Ageratum conyzoides*, *Talinum paniculatum*, *Peperomia pellucidL* y *Elephantopus scaber*. Las concentraciones usadas fueron: para P0 agua destilada como grupo control negativo, P1 10%, P2 20% y P3 albendazol como grupo positivo. El extracto con mayor eficacia fue *Elephantopus scaber* presentando una mayor mortalidad de larvas en la concentración de 20% lo que demuestra que los taninos tienen gran efectividad como antiparasitarios contra nematodos gastrointestinales en rumiantes **(Hadi et al., 2021)**.

En 2016 Hidalgo y colaboradores evaluaron el efecto de plantas ricas en taninos sobre nematodos gastrointestinales en vacas Cebú de pastoreo en un sistema silvopastoril subtropical. Se dividieron los animales en dos grupos de 31 animales cada grupo. El primer grupo (GS) fue sometido a pastoreo de *Cynodon* o *Brachiaria* mientras que al grupo 2 (SGS) se le brindó los mismos pastos y adicionalmente acceso a un bosque tropical. Los parámetros evaluados fueron: el conteo de huevos de parásitos en las heces 8 veces durante 200 días, la identificación de los nematodos y puntaje de condición corporal. Se encontraron mayor cantidad de huevos en las heces del primer grupo, la condición corporal fue de 3,3 en el primer grupo y 2,7 en el segundo grupo, los parásitos identificados fueron *Oesophagostomum spp*, *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus* y *Cooperia spp*. En la investigación se concluye que incluir plantas silvopastoriles ricas en taninos a la dieta de rumiantes contribuye a restaurar el apetito y a disminuir la presencia de diarrea que está relacionado con la reducción de la presencia larvas gastrointestinales y huevos en las heces ayudando a combatir a los nematodos y promoviendo la salud animal **(Hidalgo et al., 2016)**.

En el año 2016 Rodríguez y colaboradores evaluaron el efecto *in vitro* del extracto etanólico de *Lotus corniculatus* sobre nemátodos en bovinos. Los investigadores usaron el extracto puro y diluciones en un intervalo de 1,5 mg/ml, para evaluar el efecto del extracto se usó la técnica de eclosión de huevos para los parásitos de: *Bunostomum sp*,

Strongyloides papillosus y *Trichostrongylus*. Como resultados se obtuvieron que la concentración máxima del extracto y diluciones 1 y 2 fueron efectivas contra la eclosión de huevos de *S. papilus*, contra *T. colubriformis* la dilución 4 fue la única que no fue eficaz y para *Bunostomun spp* fueron eficaces el extracto puro y la dilución 1. Los autores concluyeron que el extracto es el más eficaz sobre la inhibición de eclosión de huevos de *T. colubriformis* **(Rodríguez et al., 2016)**.

Corona y colaboradores en el 2016 realizaron 2 experimentos para estudiar la influencia de la adición de extractos de taninos al inicio de la engorda en la carga por nematodos en becerros en corral. Para el primer experimento usaron 31 becerros y los tratamientos usados fueron: 1) testigo 0%, 2) 6 g/k con extractos de taninos condensados y 3) 6 g/k con extractos de taninos hidrolizables. Las muestras se recolectaron 3 días antes y 3 días después de haber aplicado los tratamientos, dando como resultado que los taninos hidrolizables redujeron en un 58% los huevos de *Haemonchus contortus*. Para el experimento 2 tomaron en cuenta los resultados obtenidos del experimento 1 y se duplicaron las unidades experimentales, ahora se usaron 40 becerros y los tratamientos que aplicaron fueron: 1) testigo 0% y 2) 15 g/kg de taninos hidrolizables. Los resultados fueron la disminución de huevos en un 61% de *Haemonchus sp* y 68% *Cooperia sp*. En esta investigación se concluye que la adición de taninos hidrolizables a la dieta de bovinos es una opción sustentable para el control de *Haemonchus* **(Corona et al., 2016)**.

1.2. Justificación

Según **(Lascana et al., 2008)** la resistencia a los antihelmínticos se da cuando los individuos de una población de parásitos tienen la capacidad de soportar la exposición a un fármaco en niveles que han demostrado ser letales para una gran cantidad de ejemplares de la misma especie, la resistencia provocada es irreversible. Esta resistencia tiene consecuencias como el incremento de precio para mantener la producción, la eficacia del sistema va a disminuir, la calidad de los productos no es la adecuada y sobre todo representa un riesgo para la salud pública y el medio ambiente.

Sin embargo, estudios anteriores que se han realizado describen la existencia de forrajes de leguminosas que contienen taninos condensados que se pueden usar como una opción fiable para el control de nematodos gastrointestinales en rumiantes. Esta opción ayudaría a evitar la resistencia a los antihelmínticos comerciales, ya que por décadas para el control de las infecciones parasitarias se ha hecho uso indiscriminado de estos productos comerciales, al usar estos forrajes se busca un control parasitario más sostenible (**Hoste et al., 2022.**)

Además, de todo lo expuesto anteriormente en varias investigaciones se señalan los efectos positivos de estos metabolitos secundarios en rumiantes como son la ganancia de peso, incremento en la producción de lana mejora, en la eficacia reproductiva en ovinos, ayuda a controlar el efecto del parasitismo y la presencia del timpanismo (**Márquez & Suárez, 2008**). En los últimos años se presenta un gran interés en integrar las leguminosas que contengan taninos condensados en las dietas para los rumiantes ya que se les puede usar como proteína de paso ya que esta no se degrada en el rumen llegando al intestino delgado lo cual da como ventaja una buena producción de carne y leche (**Lascano, 2009**).

Existen parásitos propios de los rumiantes como es el *Haemonchus contortus*, parásito que provoca grandes pérdidas en los rebaños ovinos. Los efectos que se pueden ver son la pérdida de peso y hasta la muerte del animal cuando se encuentran infestados. Para el control de este nemátodo se han usado fármacos antihelmínticos, aunque en la actualidad este parásito es resistente a dichos fármacos comerciales (**Guzmán et al., 2010**).

Por este motivo el presente trabajo va a estudiar los principios antihelmínticos de la *Albizia lophantha* y *Acacia mearnsii* sobre en los diferentes estadios del ciclo biológico de *Haemonchus contortus* en ovinos.

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

- Evaluar el efecto antihelmíntico de los extractos hidroalcohólicos de *Albizia lophantha* y *Acacia mearnsii* en diferentes dosis aplicándolo sobre cultivos de larvas y huevos de *Haemonchus contortus* para determinar su efecto inhibitorio.

1.3.2. Objetivos específicos

- Contabilizar el número de huevos eclosionados de *Haemonchus contortus* cultivados *in vitro* luego de la acción de extractos hidroalcohólicos en diferentes dosis de *Albizia lophantha* y *Acacia mearnsii* en un lapso de 24 horas.
- Identificar el porcentaje larvas L1 y L2 presentes en cultivos *in vitro* luego de ser sometidos a extractos de *Albizia lophantha* y *Acacia mearnsii* en diferentes concentraciones hasta llegar a las 72 horas.
- Comparar el efecto inhibitorio de los extractos de *Albizia lophantha* y *Acacia mearnsii* sobre los cultivos de larvas y huevos del nemátodo *Haemonchus contortus* realizando un conteo y sometiendo los resultados a pruebas estadísticas.

1.4. Hipótesis

La *Albizia lophantha* y la *Acacia mearnsii* como extractos tienen capacidad antihelmíntica sobre los diferentes estadios del ciclo biológico de *Haemonchus contortus*.

1.5. Introducción

La producción animal es un área realmente vasta, donde la aplicación de diversos aditivos y componentes tanto sintéticos como orgánicos son soluciones alternativas viables para la producción rentable y duradera y que no conlleven problemas a largo plazo para los animales. Una de las soluciones encontradas son los taninos, un grupo de compuestos polifenólicos que se encuentran en las plantas y poseen un sinnúmero de metabolitos biológicos que pueden tener efectos antimicrobianos, antiparasitarios, antivirales, antiinflamatorios, antioxidantes, inmunomoduladores, entre otros (Acevedo et al., 2019) ofreciendo una gran cantidad de beneficios para el sujeto que ingiere o metaboliza los mismos. Sin embargo, dichos compuestos también son reconocidos por ser factores anti nutricionales para animales monogástricos y aves de corral. Estas afirmaciones se han visto refutadas mediante investigaciones actuales, donde se ha puesto a prueba y se ha desmentido dicha afirmación, pues se ha comprobado que la aplicación de taninos de forma metódica y dosificada es capaz de repotenciar el ecosistema microbiano en el tracto digestivo, perfeccionando el metabolismo intestinal y por consiguiente mejorando la salud del animal y el rendimiento de producción (Kelln et al, 2021).

Para (BR Min & SP Hart, 2003) los programas de control de parásitos gastrointestinales que se basan en antiparasitarios comerciales fracasan debido a la resistencia que se ha producido a los mismos, por lo que es necesario aplicar medidas nuevas para el control de estos parásitos. Se ha descrito que los taninos condensados tienen un efecto biológico para el control de los parásitos gastrointestinales con un efecto ya sea directo o indirecto. Los efectos directos son la interacción del tanino condensado con el nemátodo afectando su funcionamiento fisiológico y la inhibición de la eclosión de los huevos del parásito. Los efectos indirectos son la mejora de la absorción de las proteínas protegiéndolas de la degradación ruminal. Se ha demostrado que en ovejas una buena nutrición proteica disminuye la infestación de parásitos ya que el huésped tiene una mayor inmunidad.

1.6. Oveja

Científicamente conocida como *Ovis aries* del género *Ovis* que pertenece a la familia *Bovidae* y esta a su vez al orden *Artiodactyla* (**Pazmiño & Rubio, 2012**). Es un mamífero de gran importancia económica en Ecuador, este animal ofrece leche, carne y lana. En el año 2019 se realizó un censo en el cual se determinó que en el país se registran 464.644 cabezas de ganado ovino de las cuales el 95% de se encuentra en las provincias de la Sierra, la Costa cuenta con el 4% y la Amazonía con 1%. Las provincias con mayor cantidad de cabezas son Chimborazo y Cotopaxi con 31 % y 27 % respectivamente, Tungurahua ocupa el cuarto lugar con un 10% que correspondería a 97.720 cabezas de ganado ovino (**Quishpi, 2021**).

1.7. Sistema de Producción

Se conoce como sistema de producción al conjunto de técnicas para manejo, alimentación y selección que se aplican al rebaño en función de la zona geográfica y condiciones socioeconómicas. Para precisar el tipo de sistema de producción se debe tener en cuenta; la región, el clima, los recursos nutritivos de los que se disponen, coste de la producción y la competencia con otros sistemas y el mercado (**Quishpi, 2021**).

1.8. Parásitos

Son organismos que se alimentan de un huésped u hospedero. El parasitismo se considera una gran limitante para el éxito de una producción ovina ya que dichos parásitos afectan al bienestar animal, afectan directamente a la ganancia de peso, la reproducción y producción de leche y los costos que se generan al brindar un tratamiento al animal infectado son mayores que el gasto de producción haciendo que la rentabilidad sea menor (**Zapata et al., 2016**). Estas parasitosis son el resultado de la agrupación de factores como el alimento, efecto modulador de reproducción y el estado en el que se encuentren los pastos. En los ovinos la infestación de parásitos generalmente está provocada por

helminchos y protozoarios (Torres, 2015).

Estos parásitos se desarrollan gracias a que obtienen el alimento y protección del hospedero y representan un gran problema en la salud del animal, ya que afectan de varias maneras la fisiología normal del animal como son las pérdidas de sangre y proteínas plasmáticas a nivel entérico, se dan alteraciones en el metabolismo del animal y generalmente se ve afectada la reproducción (Torres, 2015).

Las infecciones por nematodos gastrointestinales provocan un impacto importante en los sistemas de producción ganadera a nivel mundial. Este es un problema significativo especialmente en rumiantes menores ya que la producción se ve afectada y su desarrollo se ve retrasado. Entre los parásitos entéricos que más efecto tienen sobre la industria de producción pecuaria son: *Haemonchus*, *Ostertagia*, *Trichostrongylus*, *Nematodirus* y *Cooperia* (Villavicencio, 2021).

1.9. Nematodos

Los nematodos son considerados microorganismos pluricelulares, con el cuerpo vermiforme, no poseen sistema circulatorio ni respiratorio, tienen una cutícula hialina con estrías la cual mudan en cada fase larvaria. Pueden medir entre 300 a 1000 μm de largo y 15 a 35 μm de ancho. Todos los gusanos gastrointestinales que afectan a los ovinos pertenecen al orden *Strongylida* y se considera que estos han parasitado a los ovinos desde hace 350 millones de años (Toro et al., 2014).

1.10. Clasificación

Los nematodos que parasitan ovinos pertenecen al orden *Strongylida* que abarca ocho familias siendo *Trichostrongyloidea* la que contiene los géneros que con mayor frecuencia se presentan en las producciones ovinas como *Haemonchus* (Toro et al., 2014).

1.10.1. Haemonchus

Es un nemátodo que pertenece al Orden *Strongylida*, Superfamilia *Trichostrongyloidea*. Es conocido como gusano del cuajo por su ubicación en el estómago de los animales parasitados, se destaca por su amplia distribución y alta patogenicidad. Entre los efectos que produce en los animales está la anemia, hipoproteïnemia y retraso del crecimiento, en ocasiones puede llegar a provocar la muerte en animales jóvenes fuertemente parasitados **(López, n.d.)**.

Es considerado el nemátodo de mayor importancia en ovinos. Al ser hematófago cada larva puede absorber hasta 0,5 ml de sangre, lo que quiere decir que mientras mayor cantidad de larvas se encuentren en el animal mayor será la pérdida de sangre ocasionando anemia e irritación en las mucosas. Las larvas tienen un tamaño de 2 a 3 cm en ambos sexos **(Rojas et al., 2012)**. Los machos presentan una coloración rojiza completa, mientras que las hembras van a alternar el rojo con el blanco debido a la presencia de sangre en el sistema digestivo que a su vez envuelve al sistema reproductor que es de color blanquecino. Los parásitos poseen en su estructura papilas cervicales y una lanceta que se encuentra dentro de la capsula bucal. Los machos poseen una desarrollada bolsa copuladora que contiene lóbulos laterales en forma alargada y un lóbulo dorsal en forma de Y, las espículas miden de 0,46 a 0,51 mm con un pliegue pequeño al extremo, las hembras tienen una vulva que está protegida por una solapa. Los huevos tienen una morfología estrombiloide y miden de 70-85 x 41-48 µm y son liberados en las heces del hospedador con una mórula de entre 16 a 32 blastómeros **(López, n.d.)**.

1.10.2. Ciclo biológico

Tiene un ciclo de vida directo, los huevos se convierten en L1 en un lapso de 24 horas y pasan de L1 a L3 en un tiempo de 5 a 14 días. La larva L1 pasa a L2 en 1 o 2 días, estas dos fases se dan en las heces en donde este parásito permanece alimentándose de la materia orgánica y otros microorganismos, de L2 madura a su estado infectante es decir a L3

conservando la cutícula de su estadio anterior la que cubre completamente a la larva dándole una forma de vaina para que esta se encuentre aislada del medio externo, en este estadio la larva migra hacia la hierba en la que encuentra condiciones óptimas de temperatura y humedad. Estas L3 son ingeridas de los pastos ingresando al hospedador **(López, n.d.)**. Una vez que las larvas infectantes son ingeridas se desenvainan en el sistema digestivo y aquí se van a convertir en pre-adultos. En esta etapa, los parásitos tienen libertad para moverse sobre la mucosa gastrointestinal en donde van a madurar sexualmente y la hembra comenzará a poner huevos, que pueden ser de 5,000 a 10,000 por día. Cuando el parasitismo se da de forma aguda el animal va a presentar anemia, las heces van a ser oscuras, se da una pérdida de lana y si esta es crónica se da una inapetencia, pérdida de peso, debilidad y anemia **(Martínez, 2014)**.

1.10.3. Epidemiología

La supervivencia de este parásito en el exterior depende de dos factores cruciales como son la temperatura y humedad. Una temperatura menor a 12°C provoca que el ciclo biológico se detenga y conforme la temperatura va en aumento la velocidad del desarrollo será mayor hasta que alcance la temperatura óptima 26-27°C. Cuando la temperatura supera este rango se dará la mortalidad del parásito. Si la humedad oscila entre 70 y 100%. Las larvas se desarrollan en un número reducido, cuando se encuentran en un estadio L3 migran de las heces hacia el exterior si la humedad e intensidad de luz es adecuada **(Martínez, 2014)**.

1.11. Compuestos antihelmínticos en las plantas

Desde hace varias décadas en países como Ecuador, México, Colombia, entre otros se han empleado plantas o productos de estas para tratar enfermedades en animales principalmente las relacionadas con parásitos. Se ha evidenciado que las plantas pueden tener compuestos con actividad antihelmíntica en semillas, las hojas o la corteza, estas sustancias son efectivas contra helmintos y ectoparásitos. Algunos ejemplos de plantas pueden ser las acacias, la artemisa, las hojas de tabaco, aceite de quenopodio, entre otros. Gracias a la etnoveterinaria se tiene conocimiento de estas plantas con propiedades antihelmínticas

y hoy existen extractos y preparados que son usados para tratar parasitosis en animales y humanos (Márquez, 2020).

1.12. Albizia Lophantha

Pertenece a la familia *Leguminosae* y al género *Albizia*, es un árbol pequeño de 5 a 7m de altura, tiene las hojas bipinnadas de 10-20cm y estas presentan folículos asimétricos y pequeños, su inflorescencia es axilar con racimos en forma de cilindro, parece un cepillo y es de color amarillo. El fruto en legumbre es oblongo de 6 a 8,5 cm sus semillas son biconvexas con un largo de 6 a 8 mm. Generalmente se lo encuentra en bordes de caminos, lugares alterados, puede ser cultivada como planta ornamental y es conocida como acacia amarilla (Menéndez, 2022).

Forraje	Compuestos secundarios	
	Taninos totales	Fenoles totales
<i>Albizia lophantha</i>	+++	+++

Ilustración 1 Concentración de taninos y fenoles totales de *Albizia l* (Chicaiza-Tisalema et al., 2016).

1.13. Acacia mearnsii

Es un árbol de tipo legumbre y de rápido crecimiento. Es originaria de Australia, pero tiene una amplia distribución geográfica, comúnmente es conocida como Acacia negra y mide de 7 a 10 metros de altura, con ramas que pueden descender al suelo. Es usada como una fuente de tanino para el comercio, además como una fuente de leña en las comunidades locales. La acacia es capaz de crecer en una gran variedad de climas: tropicales, secos y húmedos (Vargas & Andrade et al, 2022).

1.14. Metabolitos secundarios

Son compuestos que las plantas sintetizan para que cumplan algunas funciones que no son indispensables para la planta, ya que no intervienen en el metabolismo primario de esta. Estos metabolitos intervienen en la interacción de la planta con su entorno. La planta emplea estos compuestos bioactivos como una respuesta al estrés o como método de defensa. Los metabolitos secundarios encontrados en plantas y que presentan actividad antihelmíntica son los terpenoides, fenilpropanoides, alcaloides, saponinas, ácidos grasos antraquinonas y los taninos (**Márquez, 2020**).

1.14.1. Taninos

En las leguminosas, los taninos se encuentran distribuidos en el tallo, hojas e inflorescencias de diferentes especies forrajeras. Los taninos según su grupo biosintético se pueden dividir en: taninos condensados (TC) o también llamados proantocianidinas, que son polímeros flavonoides que pueden ser degradados por oxidación de ácido a antocianinas y los taninos hidrolizables (TH) provenientes del ácido gálico y elálgico y los florotaninos que se hallan en las algas pardas. Los taninos al unirse a las proteínas de las dietas y al regular la flora intestinal del rumen van a modificar los diferentes procesos digestivos (**Lascano, 2009**) (**Márquez & Suárez, 2008**).

Los taninos se concentran en las partes de la planta que van a ser más fácilmente consumidas por animales, como son las hojas y las flores; sin embargo, la disposición de taninos varía según la especie de planta y las condiciones ambientales en las que la misma crezca, aunque se tiene la creencia de que se desarrollan en regiones áridas, semiáridas y tropicales. Algunas plantas tienen la capacidad de sintetizar y movilizar taninos para conservar energía y para mantener el nitrógeno en suelos con poca fertilidad, también se usan como mecanismo de defensa contra virus, bacterias, insectos, hongos y para repeler a herbívoros así mantienen mayor probabilidad de supervivencia (**Márquez, 2020**).

1.14.2. Taninos hidrolizables

En su molécula tienen un carbohidrato en el centro, tienen un bajo peso molecular, son más solubles en el agua que los taninos condensados. Se encuentran principalmente en las vainas de las frutas y en las hojas de los árboles, se degeneran rápidamente en grupos fenólicos y ya no pueden unirse a las proteínas. Los productos de degradación pueden absorberse en el intestino delgado y si son ingeridos en cantidades grandes pueden resultar tóxicos para los rumiantes (**Jenko et al., 2018**).

1.14.3. Taninos condensados

También son conocidos como proantocianidinas, estos son más comunes y los podemos encontrar en las leguminosas, árboles y arbustos. Tienen una estructura compleja de oligómeros y polímeros de unidades flavonoides que se unen por enlaces de carbono por lo general se presentan en la vacuola de la célula y en la pared celular de la célula. Gracias a su capacidad de ligarse a las proteínas y reducen la degradación ruminal de las mismas, por tanto, tienen una gran participación en la nutrición de rumiantes. Existen evidencias que señalan que los taninos condensados mejoran la ganancia de peso, producción de lana y reducen el impacto del parasitismo gastrointestinal en ovinos. Cuando los niveles de proteína cruda son bajos y la fibra es alta los taninos condensados pueden generar efectos negativos en el animal como pérdida de peso, la calidad de carne se ve afectada y la producción de lana disminuye (**Jenko et al., 2018**) (**Gemeda & Hassen, 2015**).

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA

2.1. Materiales

2.1.1. Materiales de campo

- Botas
- Overol
- Fundas de plástico
- Bolsas de papel
- Marcadores

2.1.2. Material biológico

- Ovinos
- Heces de ovinos

2.1.3. Equipos y materiales de laboratorio

- Incubadora
- Estufa
- Balanza analítica
- Microscopio
- Estereoscopio
- Vasos de precipitación
- Tubos de ensayo
- Porta y cubreobjetos
- Gradillas
- Probeta
- Cajas petri
- Frascos ámbar (1L)

- Varillas de vidrio
- Guantes de nitrilo
- Mascarillas
- Mandil de laboratorio

2.1.4. Reactivos

- Agar nutritivo
- Azúcar
- Agua destilada

2.2. Ubicación del estudio

El estudio se realizó en los laboratorios de ruminología y Sanidad Vegetal de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, ubicada en el cantón Cevallos, en la provincia de Tungurahua, Ecuador con coordenadas 1°22'5" Latitud Sur y 78°36'32" Latitud Oeste **(INAMHI,2019)**.

2.3. Modalidad de la investigación

El trabajo tiene una modalidad de investigación experimental, ya que los resultados fueron obtenidos de la realidad y se estudiarán tal cual se presentan sin manipular las variables **(Hernández-Sampieri et al. 2014)**.

2.4. Tipo de investigación

Esta investigación es de tipo experimental ya que los resultados se obtuvieron de experimentos realizados en un laboratorio y se aplicará tres elementos científicos para la investigación: control, manipulación y observación **(Hernández-Sampieri et al. 2014)**.

2.5. Recolección de la información

La información para este estudio se obtuvo por medio de un trabajo de campo y experimental que se realizó en los laboratorios de Ruminología y Sanidad Vegetal de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato y también se realizó una revisión bibliográfica sobre la producción ovina, el efecto positivo y negativo del uso de los taninos como antihelmíntico.

2.6. Análisis de la información

Para determinar si existen diferencias significativas entre los tratamientos aplicados se aplicó el Análisis de la Varianza (ANOVA), ya que esta técnica estadística se usa para comparar la media de tres o más grupos. Así mismo, permite determinar si la hipótesis planteada se rechaza o se acepta. Luego se aplicó la prueba Tukey ya que se usa en conjunto con el análisis ANOVA, la prueba Tukey compara las medias individuales de un análisis de varianza de varias muestras sometidas a tratamientos distintos, lo que se realizó en esta investigación **(Fallas, 2012)**.

2.7. Métodos

Para la elaboración de los extractos hidroalcohólicos se recolectaron hojas de *Albizia lophantha* y *Acacia mearnsii* de árboles que se encuentran en los predios de la universidad. Las hojas deben estar verdes y frescas. Posteriormente; estas hojas se colocaron en una estufa a 60°C por 48 horas, luego se trituraron con un molinillo y de la harina que se obtuvo se tomaron 250 gramos se colocó en un frasco ámbar con capacidad de 1L y se añadió 250 ml de la solución disolvente (agua destilada + alcohol al 96%), se dejó reposar por 7 días, luego de este tiempo se colocó el macerado por 4 horas en la estufa a una temperatura de 60° y el producto obtenido se lo filtró con la ayuda de papel filtro y se realizaron la respectivas diluciones **(Castillo et al., 2014)**.

Luego se recolectaron muestras de heces directamente del recto de 10 ovinos parasitados, a los cuales se les realizó un examen coprológico inicial para verificar la presencia de *Haemonchus contortus*. Dichas muestras se recogieron en fundas plásticas para luego ser llevadas al laboratorio y con la ayuda de una cámara de McMaster se determinó la cantidad de huevos por gramo de heces **(Castillo et al., 2014)**.

Para el estudio *in vitro* se van a aplicar 4 tratamientos de cada extracto, el grupo control (T1 extracto puro) y los tres restantes contarán con diferentes concentraciones (T2 0,04 mg/ml; T3 0,08 mg/ml y T4 0,12 mg/ml) de los extractos de *Albizia lophantha* y *Acacia mearnsii*.

Para evaluar la inhibición de la eclosión de los huevos se sembraron los huevos de *Haemonchus contortus* con la ayuda de la técnica de flotación de Willis. Con una micropipeta se cogió 10 µl de la superficie, se colocó la gota sobre un portaobjetos y se observó con un microscopio. Se contaron 50 huevos y se colocaron en cajas Petri de cada tratamiento (n=4). Las cajas Petri contenían 6ml de cultivo nutritivo y se incubaron a una temperatura de 24°C, luego de que transcurrieran 16 horas (hora 0) se aplicó el tratamiento con el extracto y dosis correspondiente. Posterior a esto se volvió a incubar por 24 horas y se procedió a contar el número de huevos no eclosionados y larvas L1 con la ayuda de un estereoscopio **(Marie-Magdeleine et al., 2009)**.

Para evaluar la mortalidad larval se obtuvieron las larvas por la técnica de Agar-placa en la cual se colocaron 1,5gramos de heces en cajas Petri con agar nutritivo y se sellaron con Parafilm. Se dejó incubar por 3-4 días y posterior a esto se enjuagó con agua destilada y se observó en el estereoscopio la presencia de larvas de *Haemonchus contortus*. Se escogieron 50 en estadio L1 y L2 se sembraron en cajas Petri con 6 ml de cultivo nutritivo se las incubó por 24 horas y se procedió a aplicar la dosis del extracto que corresponde a cada tratamiento contando esa como hora 0, luego se contabilizaron las

larvas que sobrevivieron cada 12 horas hasta completar las 72 horas (**Marie-Magdeleine et al., 2009**).

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Resultados

Tabla 1: Inhibición de la eclosión de huevos *in vitro* de *Haemonchus contortus* luego de aplicar diferentes concentraciones del extracto de *Albizia lophantha*.

Horas	<i>ALBIZIA LOPHANTHA</i>				EEM	P
	TRATAMIENTOS					
	T0	T1	T2	T3		
Huevos 0 horas	50 ^a	50 ^a	50 ^a	50 ^a	0	>0.05
Huevos 24 horas	0.00 ^a	0.00 ^a	6.75 ^b	16.50 ^c	0.45	< 0.0001
Larvas 24 horas	0.00 ^a	49.75 ^d	41.00 ^c	28.75 ^b	0.60	< 0.0001

^{abc} Medias con letras iguales no son significativamente diferentes ($P > 0.05$). EEM: Error Estándar de la Media. T0: extracto puro de *Albizia*; T1: 0.04 ml/ml; T2: 0.08 ml/ml; T3: 0.12 ml/ml.

En la inhibición de la eclosión de huevos al aplicar el extracto de *Albizia lophantha* se puede observar que existió diferencias entre los tratamientos aplicados, siendo los más efectivos T0 (extracto puro) que mató a todos los huevos y T3 (0.12 ml/ml) que inhibió la eclosión del 33% de los huevos, le sigue T2 (0.08 ml/ml) que inhibió la eclosión de 13.5% de los huevos y el menos efectivo T1 (0,04 ml/ml) que permitió la eclosión del 99.5% de los huevos sembrados haciéndolo el menos efectivo.

Tabla 2: Inhibición de la eclosión de huevos *in vitro* de *Haemonchus contortus* luego de aplicar diferentes concentraciones del extracto de *Acacia mearnsii*.

<i>ACACIA MEARNsii</i>							
horas	-	TRATAMIENTOS				EEM	P
		T0	T1	T2	T3		
Huevos 0 horas		50 ^a	50 ^a	50 ^a	50 ^a	0	>0.05
Huevos 24 horas		0.00 ^a	0.00 ^a	6.25 ^b	14.75 ^c	0.34	< 0.0001
Larvas 24 horas		0.00 ^a	49.50 ^d	40.25 ^c	30.00 ^b	0.45	< 0.0001

^{abc} Medias con letras iguales no son significativamente diferentes ($P > 0.05$). EEM: Error Estándar de la Media. T0: extracto puro de *Acacia m*; T1: 0.04 ml/ml; T2: 0.08 ml/ml; T3: 0.12 ml/ml.

Al aplicar el extracto de *Acacia mearnsii* se obtuvieron resultados similares a la tabla anterior siendo los más efectivos para la inhibición de la eclosión de huevos el T0 que de igual manera mató a todos los huevos y T3 que inhibió la eclosión del 29.5% de los huevos sembrados, seguido por T2 (0.08 ml/ml) que inhibió la eclosión del 13.5% de los huevos y T1 (0,04 ml/ml) que permitió la eclosión del 99% de los huevos siendo el menos efectivo a comparación de los otros tratamientos.

Tabla 3: Mortalidad larval luego de aplicar el extracto de *Albizia lophantha* en diferentes concentraciones (por horas).

<i>ALBIZIA LOPHANTHA</i>							
Horas	-	TRATAMIENTOS				EEM	P
		T0	T1	T2	T3		
0 horas		50 ^a	50 ^a	50 ^a	50 ^a	0	>0.05
12 horas		10.25 ^a	47.75 ^c	48.00 ^c	45.25 ^b	0.51	< 0.0001
24 horas		0.00 ^a	39.75 ^d	31.75 ^c	20.50 ^b	0.71	< 0.0001
36 horas		0.00 ^a	32.50 ^d	26.00 ^c	4.25 ^b	0.57	< 0.0001
48 horas		0.00 ^a	18.75 ^c	8.75 ^b	0.00 ^a	0.40	< 0.0001
60 horas		0.00 ^a	11.50 ^b	0.00 ^a	0.00 ^a	0.32	< 0.0001
72 horas		0.00 ^a	11.25 ^b	0.00 ^a	0.00 ^a	0.24	< 0.0001

^{abc} Medias con letras iguales no son significativamente diferentes ($P > 0.05$). EEM: Error Estándar de la Media. T0: extracto puro de *Albizia*; T1: 0.04 ml/ml; T2: 0.08 ml/ml; T3: 0.12 ml/ml.

Con respecto a la mortalidad larval al aplicar el extracto de *Albizia lophantha* se puede observar en la tabla 3 que entre tratamientos existe una diferencia significativa a partir de la hora 24 que en la que T0 presenta una supervivencia larval del 0%, seguido de T3 que presenta un 41% de supervivencia, T2 con un 63.5% y T1 un 79.5%, a las 48h T3 presenta una supervivencia larval del 0%, T2 un 17.5% y T1 37,5%, a las 72h T2 ya presenta un 0% de supervivencia larval a comparación de T1 que sigue presentando un 22.5% de supervivencia larval haciéndolo el tratamiento menos efectivo para la mortalidad larval.

Tabla 4: Mortalidad larval luego de aplicar el extracto de *Acacia mearnsii* en diferentes concentraciones (por horas).

<i>ACACIA MEARNSII</i>						
horas	TRATAMIENTOS				EEM	P
	T0	T1	T2	T3		
0 horas	50 ^a	50 ^a	50 ^a	50 ^a	0	>0.05
12 horas	10.25 ^a	47.75 ^b	46.75 ^b	46.25 ^b	0.63	< 0.0001
24 horas	0.00 ^a	40.00 ^d	31.25 ^c	20.50 ^b	0.76	< 0.0001
36 horas	0.00 ^a	34.75 ^c	22.25 ^b	2.75 ^a	0.71	< 0.0001
48 horas	0.00 ^a	21.75 ^c	10.25 ^b	0.00 ^a	0.76	< 0.0001
60 horas	0.00 ^a	12.25 ^b	0.25 ^a	0.00 ^a	0.57	< 0.0001
72 horas	0.00 ^a	11.75 ^b	0.00 ^a	0.00 ^a	0.52	< 0.0001

^{abc} Medias con letras iguales no son significativamente diferentes ($P > 0.05$). EEM: Error Estándar de la Media. T0: extracto puro de *Albizia*; T1: 0.04 ml/ml; T2: 0.08 ml/ml; T3: 0.12 ml/ml.

Al aplicar el extracto de *Acacia mearnsii* sobre las larvas se obtuvo el siguiente resultado; los tratamientos presentan diferencias significativas entre ellos a partir de la hora 24 en la que T0 presenta una supervivencia larval del 0%, seguido por T3 que presenta una supervivencia del 41%, T2 con el 62.5% y T1 presenta el 80% de supervivencia larval, a las 48h T3 presenta una supervivencia del 0%, T2 presenta el 20,5% y a las 72h el 0% y por ultimo T1 que a las 72 horas sigue presentando un 23.5% de supervivencia larval mostrando poca eficacia en la mortalidad larval.

3.2. Discusión

El efecto que presentaron tanto la *Albizia lophantha* como la *Acacia mearnsii* sobre la inhibición de la eclosión de los huevos y mortalidad larval se puede deber a que contienen metabolitos secundarios como son los taninos (**Chicaiza-Tisalema et al., 2016; Vargas & Andrade et al., 2023**). Los taninos inhiben la eclosión de los huevos de estos nematodos afectando la tensión superficial lo que no permite que estos eclosionen, la larva no se desenvaine y no se dé el desarrollo de estas (**Alonso-Díaz et al., 2008**). Según (**Márquez, 2020**) se han generado dos hipótesis sobre el efecto antihelmíntico que tienen los taninos condensados sobre los nematodos gastrointestinales, la primer hipótesis plantea que los taninos tienen un efecto indirecto sobre los parásitos ya que los taninos generan un complejo con las proteínas protegiéndolas de la degradación ruminal llegando con mayor facilidad al intestino delgado en donde al degradarse los aminoácidos disponibles estos son absorbidos y a mayor utilización de las proteínas se da una mejora en la parte nutricional del animal incrementando la respuesta del sistema inmune hacia los parásitos, esta respuesta indirecta modifica la mucosa gastrointestinal del hospedero aumentando la inmunidad afectando la fisiología de los parásitos gastrointestinales.

También se menciona que los taninos condensados tienen un efecto directo sobre la biología del parásito debido a que como ya se mencionó antes los taninos tienen afinidad por las proteínas y la cutícula de los parásitos contienen prolina e hidroxiprolina que son aminoácidos que al unirse a los taninos provocan cambios cuticulares como el cambio de textura de lisa a irregular, la presencia de filamentos ondulados, la flexibilidad se ve afectada y los procesos de muda se ven interrumpidos (**Greiffer et al., 2022**). La prolina e hidroxiprolina se han encontrado en otras estructuras de los nematodos como la cavidad bucal, esófago, cloaca y vulva. Otra acción que se ha presentado es que cuando los taninos tienen contacto con las larvas ingeridas no se produce el desenvaine de las larvas L3 lo que no les permite establecerse y continuar con el ciclo evolutivo (**Márquez, 2020**).

En el experimento al evaluar la inhibición de los huevos se puede observar que entre los dos extractos no existe diferencia significativa, pero entre tratamientos sí se presenta diferencias bastante significativas. Al volver a contabilizar 24 horas después de haber aplicado los extractos, siendo el más efectivo T0 con el extracto puro que mató a todos los huevos, seguido de T3 que tuvo mayor acción de inhibición a comparación de T2 y T1 que resultaron ser los tratamientos de menor efectividad.

Con respecto a la supervivencia larval, los dos extractos actuaron de manera muy similar, las diferencias se presentaron entre los tratamientos. A las 12 horas luego de haber aplicado el extracto de *Albizia* se aprecia que T0 mató a más de la mitad de las larvas, mientras que los otros tratamientos presentaron valores algo similares, a las 24 horas T0 no presentó supervivencia larvaria, T3 presentó un 41%, T2 63.5% y T1 79.5%, a las 36 horas T3 presentó una supervivencia del 8.5%, T2 52% y T1 65%, a las 48 horas T3 ya no presentaba supervivencia larvaria, T2 presentó un 17.5% y T1 37.5% , a la hora 60 el único tratamiento que presentaba supervivencia larvaria fue T1 con 23% y a las 72 horas aún contenía un 22.5% de supervivencia.

Con el extracto de *Acacia* se observó un resultado similar al anterior, a las 24 horas T0 presentó una sobrevivencia larvaria del 20,5% matando a más de la mitad de las larvas sembradas, a comparación de los otros tratamientos los valores que presentaron fueron algo similares, a las 24 horas para T0 ya no existía sobrevivencia larvaria, T3 presentó un 41%, T2 62.5% y T1 80%, a las 36 horas T3 presentó una sobrevivencia del 5.5%, T2 44.5% y T1 69.5%, a las 48 horas T3 ya no presentaba sobrevivencia larvaria, T2 presentó un 20.5% y T1 43.5% , a la hora 60 T2 presentó un 0.5% de sobrevivencia y T1 24.5% y a las 72 horas T1 aún presentaba sobrevivencia de un 23.5%.

Basándose en los resultados obtenidos se puede apreciar que en ambos casos el tratamiento más efectivo fue T0 siendo el extracto puro, el cual no es recomendado ya que al tener

una alta concentración de taninos podría generar efectos negativos relacionado con el consumo de alimentos, crecimiento del animal y el valor nutritivo de los forrajes, esto se da porque los taninos al tener afinidad por las proteínas se unen a las que se encuentran en la saliva generando una sensación de contracción y disminuyendo la palatabilidad de los forrajes, influyendo sobre la digestión, esto se potencia debido a que se reduce la fermentación generando el llenado del rumen (Márquez, 2020). Por estos motivos se recomienda el uso del tratamiento con una concentración de 0.12ml/ml que también presentó un efecto positivo sobre la inhibición de la eclosión de huevos y la mortalidad de larvas y se puede aprovechar los demás efectos positivos de los taninos: prevención del timpanismo, aumento en la absorción de aminoácidos y disminución de la emisión de gases de efecto invernadero (Torres et al., 2008). Según la literatura se recomienda que la concentración de los taninos condensados en materia seca no debe ser mayor al 4% para que no se presente un efecto negativo en el animal (Márquez, 2020).

3.3. Verificación de hipótesis

En base a los resultados obtenidos se puede decir que la *Albizia lophantha* y la *Acacia mearnsii* como extractos hidroalcohólicos poseen una capacidad antihelmíntica sobre los diferentes estadios del ciclo biológico de *Haemonchus contortus*.

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. Conclusiones

- Se evaluó el efecto antihelmíntico de los extractos hidroalcohólicos de *Albizia lophantha* y *Acacia mearnsii* en diferentes concentraciones obteniendo un resultado efectivo al aplicarlo sobre los cultivos de huevos y larvas de *Haemonchus contortus*.

- Se contabilizaron el número de huevos eclosionados de *Haemonchus c* cultivados *in vitro* luego de haber sido expuestos por 24 horas a los extractos de *Albizia l* y *Acacia m* en diferentes concentraciones obteniendo como resultado que los dos extractos actúan de manera similar sobre la inhibición de la eclosión de huevos, siendo el de mayor eficacia el extracto puro (T0).

- Se identificó el porcentaje de larvas L1 y L2 presentes en los cultivos *in vitro* luego de haber aplicado los extractos hidroalcohólicos de *Albizia l* y *Acacia m* en diferentes concentraciones contabilizando las larvas sobrevivientes cada 12 horas hasta llegar a las 72 horas, se determinó que ambos extractos tienen una acción similar siendo el más efectivo el tratamiento T0 (extracto puro).

4.2. Recomendaciones

A partir de los resultados obtenidos en esta investigación se recomienda:

- Realizar más estudios *in vitro* con plantas que contengan metabolitos secundarios similares a las plantas usadas en esta investigación para evaluar el efecto antihelmíntico sobre parásitos gastrointestinales.
- Realizar investigaciones *in vivo* en animales parasitados usando los extractos de *Albizia lophantha* y *Acacia mearnsii* en una concentración de acuerdo con el nivel de parasitismo del animal y considerando el medio de dilución para que sea consumido por los animales.

Referencias bibliográficas

Aboagye, I. A., & Beauchemin, K. A. (n.d.). *Potential of Molecular Weight and Structure of Tannins to Reduce Methane Emissions from Ruminants: A Review*. <https://doi.org/10.3390/ani9110856>

Alonso-Díaz, M. A., Torres-Acosta, J. F. J., Sandoval-Castro, C. A., Capetillo-Leal, C., Brunet, S., & Hoste, H. (2008). Effects of four tropical tanniniferous plant extracts on the inhibition of larval migration and the exsheathment process of *Trichostrongylus colubriformis* infective stage. *Veterinary Parasitology*, 153(1–2), 187–192.

Acevedo, P., Hallal, C., Flores, I., Alba, F., Mendoza, M., Castro del Campo, N., & Barajas, R. (2019). Anthelmintic effect and tissue alterations induced *in vitro* by hydrolysable tannins on the adult stage of the gastrointestinal nematode *Haemonchus contortus*. *Veterinary Parasitology*, 266, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.12.008>

BR Min, & SP Hart. (2003). Taninos para la supresión de parásitos internos. *Journal of Animal Science*, 81, E102–E109.

Castillo, M., Quinatoa, E., Risco, D., & Itziar, A. (2014). Preliminary Phytochemical Screening of Some Andean Plants. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 28, 35–37.

Chiatellino, D., Spinelli, G., Cabral, C., Redondo, E., & Baeck, J. (2020). Efecto de la suplementación con taninos líquidos en agua de bebida sobre la evolución de la carga parasitaria y la ganancia de peso de novillitos recriados en pasturas. *Agroveter*.

Chicaiza-Tisalema, E., Barros-Rodríguez, M., Zurita-Vásquez, H., Mera-Andrade, R., Velástegui-Espín, G., Muñoz-Espinoza, M., Espinoza-Vaca, S., Ortiz-Tirado, P., & Ibarra-López, E. (2016). Efecto Antihelmíntico *in vitro* del Extracto de *Albizia Lophantha* sobre Nematodos Gastrointestinales de Caballos. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 27(3), 556. <https://doi.org/10.15381/rivep.v27i3.12007>

Corona, M., Murillo, E., Castro, N., Romo, J., Cervantes, B., Gaxiola, S., & Barajas, R. (2016). Influencia de la adición de extractos de taninos al inicio de la engorda en la carga por nemátodos en becerros en corral. *Agrociencia*, 508.

Corrêa, P. S., Mendes, L. W., Lemos, L. N., Crouzoulon, P., Niderkorn, V., Hoste, H., Costa-Júnior, L. M., Tsai, S. M., Faciola, A. P., Abdalla, A. L., & Louvandini, H. (2020). Tannin supplementation modulates the composition and function of ruminal microbiome in lambs infected with gastrointestinal nematodes. *FEMS Microbiology Ecology*, 96(3). <https://doi.org/10.1093/femsec/fiaa024>

Díaz Carrasco, J. M., Cabral, C., Redondo, L. M., Pin Viso, N. D., Colombatto, D., Farber, M. D., & Fernández Miyakawa, M. E. (2017). Impact of Chestnut and Quebracho Tannins on Rumen Microbiota of Bovines. *BioMed Research International*, 2017, 1–11. <https://doi.org/10.1155/2017/9610810>

Gemeda, B. S., & Hassen, A. (2015). Effect of Tannin and Species Variation on *In vitro* Digestibility, Gas, and Methane Production of Tropical Browse Plants. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 28(2), 188–199. <https://doi.org/10.5713/ajas.14.0325>

Greiffer, L., Liebau, E., Herrmann, F. C., & Spiegler, V. (2022). Condensed tannins act as anthelmintics by increasing the rigidity of the nematode cuticle. *Scientific Reports*, 12(1), 18850. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-23566-2>

Guzmán, M., Fiel, C., & Steffan, P. (2010). La infección cruzada de *Haemonchus contortus* de ovinos a bovinos y el riesgo de una transmisión de resistencia antihelmíntica. Sitio Argentino de Producción Animal.

Hadi, R. F., Handayanta, E., Widayati, S. D., Hanifa, A., Suprayogi, W. P. S., & Sudiyono, and. (2021). *In vitro* anthelmintic activities of shrub plants extract for *Haemonchus contortus* worms. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 712(1), 012047. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/712/1/012047>

Hidalgo, G., Pineda, J., Olvera, E., Ortiz, R., Cuellar, A., & Galinado, E. (2016). Effect of tannins-rich plants to control gastrointestinal nematodes in Zebu cows grazing in a sub-

tropical sylvopastoral system. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*, 24(4), 241–251.

Hoste, H., Meza-Ocampos, G., Marchand, S., Sotiraki, S., Sarasti, K., Blomstrand, B. M., Williams, A. R., Thamsborg, S. M., Athanasiadou, S., Enemark, H. L., Felipe, J., Acosta, T., Mancilla-Montelongo, G., Castro, C. S., Costa-Junior, L. M., Louvandini, H., Mesquita Sousa, D., Salminen, J.-P., Karonen, M., ... Morgan, E.

R. (n.d.). *Use of agro-industrial by-products containing tannins for the integrated control of gastrointestinal nematodes in ruminants*. <https://doi.org/10.1051/parasite/2022010>

Hoste, H., Jackson, F., Athanasiadou, S., Thamsborg, Stig. M., & Hoskin, S. O. (2006). The effects of tannin-rich plants on parasitic nematodes in ruminants. *Trends in Parasitology*, 22(6), 253–261. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2006.04.004>

Hernández-Sampieri, R; Fernández-Collado, C; Baptista-Lucio, P. 2014. Metodología de la Investigación. Sexta. Ciudad de México, Mcgraw-Hill/Interamericana Editores, S.A. DE C.V.

Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología (INAMHI). (2019). Querochaca – Ecuador.

Jenko, C., Bonato, P., Fabre, R., Perlo, F., Tisocco, O., & Teira, G. (2018). Adición de taninos a dietas de rumiantes y su efecto sobre calidad y rendimiento de la carne. *Ciencia, Docencia y Tecnología*, 29(ISSN 1851-1716).

Kelln, B., Penner, G., Acharya, S., McAllister, T., & Lardner, H. (2021). Impact of condensed tannin-containing legumes on ruminal fermentation, nutrition, and performance in ruminants: A review. In *Canadian Journal of Animal Science* (Vol. 101, Issue 2, pp. 210–223). Agricultural Institute of Canada. <https://doi.org/10.1139/cjas-2020-0096>

Lascana, D., Ferrer, L., Ramos, J., Calvete, C., Uriarte, J., Ruiz, M., & Ortega, M. (2008). Resistencia a los antiparasitarios de uso común en ganaderías ovinas de Aragón. *Informaciones Técnicas*, 193.

- Lascano, Patricia. (2009). Taninos condensados y su efecto sobre los parásitos gastrointestinales de ovinos. https://ciencia.lasalle.edu.co/medicina_veterinaria/322
- López, H. (n.d.). *Haemonchus contortus* y *Fasciola hepática* en ovinos. *La Vida Animal*.
- Márquez, D., & Suárez, Á. (2008). El uso de taninos condensados como alternativa nutricional y sanitaria en rumiantes. *Revista de Medicina Veterinaria*, 16.
- 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(1–2), 99–105. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.12.008>
- Márquez, D., & Suárez, Á. (2008). El uso de taninos condensados como alternativa nutricional y sanitaria en rumiantes. *Revista de Medicina Veterinaria*, 16.
- Márquez, D. (2020, January 13). *Taninos condensados: una alternativa al control convencional de los nematodos gastrointestinales en rumiantes*. Engormix.
- Martínez, J. (2014). *Determinación de Haemonchus contortus en muestras de materia fecal de ovinos en el municipio de Acambay, estado de México*. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.
- MENÉNDEZ VALDERREY, Juan Luis. *Paraserianthes lophantha*. En asturnatura.com [en línea] Num. 882, 21/02/2022 [consultado el 17/2/2023]. Disponible en asturnatura.com.
- MOLANO, C. E. R., SUAREZ, N. J. P., & MONTAÑA, A. R. (2019). Evaluación de tres extractos de plantas para inhibir el desarrollo de larvas de los parásitos gastrointestinales de ovinos. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 23(3). <https://revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/article/view/449/323>
- Morales, R., & Ungerfeld, E. M. (2015). Use of tannins to improve fatty acids profile of meat and milk quality in ruminants: A review. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 75(2), 239–248. <https://doi.org/10.4067/S0718-58392015000200014>

Pandey, A., Nayak, S., Khare, A., Sharma, R., Reddy, B. V. v., & Risheen, G. D. (2022). Perspectives in the use of tannins in animal production & health: a review. *Journal of Livestock Science*, 13(2), 112. <https://doi.org/10.33259/jlivestsci.2022.112-119>

Pazmiño, F., & Rubio, D. (2012). *DIAGNÓSTICO DE PRODUCCIÓN Y COMERCIALIZACIÓN DE CARNE OVINA EN LOS PRINCIPALES CENTROS DE DISTRIBUCIÓN DE LAS PROVINCIAS DE PICHINCHA, COTOPAXI,*

TUNGURAHUA Y CHIMBORAZO. Escuela Politécnica del Ejército.

Quishpi, J. (2021). SITUACIÓN ACTUAL DE LA PRODUCCIÓN OVINA EN EL ECUADOR [CARRERA ZOOTECNIA]. ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO.

Rodríguez, C., Reatiga, Y., & Gómez, F. (2016). Efecto *in vitro* del extracto de *Lotus corniculatus* L. sobre nemátodos gastrointestinales bovinos. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 21(2), 145–156.

Rodríguez-Hernández, P., Reyes-Palomo, C., Sanz-Fernández, S., Rufino-Moya, P. J., Zafra, R., Martínez-Moreno, F. J., Rodríguez-Estévez, V., & Díaz-Gaona, C. (2023). Antiparasitic Tannin-Rich Plants from the South of Europe for Grazing Livestock: A Review. *Animals*, 13(2), 201. <https://doi.org/10.3390/ani13020201>

Rojas, N., Arece, J., Carrión, M., Pérez, K., San Martín, C., Valerino, P., & Ramírez, W. (2012). Identificación y caracterización de especies de *haemonchus* en caprinos del Valle del Cauto en Granma. *REDVET*, 13.

Sandoval, G., Olmos, L., Martínez, G., Alfaro, E., & Suarez, V. (2019). Efecto del suministro de taninos concentrados sobre los nematodos gastrointestinales en pequeños rumiantes. *Revista FAVE*, 17, 55–60.

Toro, A., Rubilar, L., Palma, C., & Pérez, R. (2014). Resistencia antihelmíntica en nematodos gastrointestinales de ovinos tratados con ivermectina y fenbendazol. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 46(2), 247–252. <https://doi.org/10.4067/S0301-732X2014000200010>

Torres, J., Alonso, M., Hoste, H., Sandoval, C., & Aguilar, A. (2008). EFECTOS NEGATIVOS Y POSITIVOS DEL CONSUMO DE FORRAJES RICOS EN TANINOS EN LA PRODUCCIÓN DE CAPRINOS. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 9, 83–90.

Torres, R. (2015). *Estudio epidemiológico sobre la presencia de parásitos gastrointestinales y ectoparásitos en el ganado ovino en tres comunidades del cantón Guamate, provincia de Chimborazo* [Maestría en Producción Animal, Universidad de las Fuerzas Armadas]. <http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/10368/1/T-ESPE-048458.pdf>

Vargas-Ortiz, L., Andrade-Yucailla, V., Barros-Rodríguez, M., Lima-Orozco, R., Macías-Rodríguez, E., Contreras-Barros, K., & Guishca-Cunuhay, C. (2022). Influence of Acacia Mearnsii Fodder on Rumen Digestion and Mitigation of Greenhouse Gas Production. *Animals*, 12(17), 2250

Villavicencio, B. (2021). *Prevalencia de parásitos gastrointestinales en ovinos en la Parroquia Guangaje Cantón Pujilí*. Universidad Técnica de Cotopaxi.

Zapata Salas, R., Velásquez Vélez, R., Herrera Ospina, L. V., Ríos Osorio, L., & Polanco Echeverry, D. N. (2016). Prevalencia de Nematodos Gastrointestinales en Sistemas de Producción Ovina y Caprina bajo Confinamiento, Semiconfinamiento y Pastoreo en Municipios de Antioquia, Colombia. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 27(2), 344. <https://doi.org/10.15381/rivep.v27i2.11647>

ANEXOS



Ilustración 2 Recolección de muestras.



Ilustración 3 Técnica de flotación (Willis)



Ilustración 4 Presencia de huevos de *Haemonchus contortus* en examen coprológico.

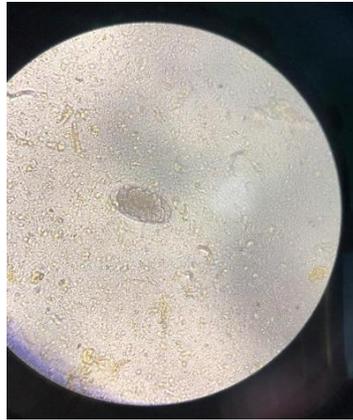


Ilustración 5 Huevo de *Haemonchus contortus*.



Ilustración 6 Técnica de agar placa para la obtención de larvas de *Haemonchus contortus*.



Ilustración 7 Larva de *Haemonchus contortus*.



Ilustración 8 Diluciones de *Albizia l.*



Ilustración 9 Preparación de las diluciones de los extractos.



Ilustración 10 Diluciones de *Acacia m.*



Ilustración 11 Aplicación de los extractos sobre las siembras.



Ilustración 12 Aplicación de extractos sobre siembras de huevos de *Haemonchus contortus*.



Ilustración 13 Aplicación de extracto puro de *Albizia l* en siembra de larvas de *Haemonchus c.*



Ilustración 14 Aplicación del extracto de *Albizia l* 0.04 ml/ml sobre siembra de larvas de *Haemonchus c*



Ilustración 15 Aplicación del extracto de *Albizia l* 0.08 ml/ml sobre siembra de larvas de *Haemonchus c*



Ilustración 16 Aplicación del extracto de *Albizia* 10.12 ml/ml sobre siembra de larvas de *Haemonchus c*



Ilustración 17 Aplicación del extracto puro de *Acacia mearnsii* sobre siembra de larvas de *Haemonchus c*



Ilustración 18 Aplicación del extracto de *Acacia m* 0.04 ml/ml sobre siembra de larvas de *Haemonchus c*



Ilustración 19 Aplicación del extracto de *Acacia m* 0.08 ml/ml sobre siembra de larvas de *Haemonchus c*



Ilustración 20 Aplicación del extracto de *Acacia m* 0.12 ml/ml sobre siembra de larvas de *Haemonchus c*