



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
Y ZOOTECNIA**

Evaluación del efecto antihelmíntico *in vivo* de
Gliricidia sepium en bovinos infectados
naturalmente con nematodos gastrointestinales

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

P R E S E N T A

NANCY NOEMI MENDOZA MARTÍNEZ

Asesores:

Dr. Miguel Ángel Alonso Díaz

Dra. Elke von Son de Fernex

Ciudad Universitaria, Cd. Mx., 2017





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

*A mamma e papà, che non mi hanno mai fatto mancare il
loro sostegno
e senza i quali non avrei potuto realizzare il mio sogno.*

*A miei fratelli David e Alejandro, che mi hanno supportato e
sopportato in questa avventura chiamata vità.*

A mia nonna, che è la mia adorazione.

Agradecimientos

Si bien este trabajo implicó mucho tiempo, trabajo y dedicación por parte mía y de mis asesores, quisiera expresar mis más sinceros agradecimientos a todas las personas que a continuación citaré...

A mis padres, los cuales, son el motor de mi día a día, quienes son mi ejemplo a seguir, por su apoyo, amor, dedicación y valores, por darme la confianza y fortaleza para seguir adelante, sin ustedes no sería lo que soy.

A mis hermanos, por su sostén en los momentos más difíciles, así como los momentos de alegría que hemos pasado, los quiero.

A mi abue, por brindarme todo su cariño, cuidado y consentirme, usted es mi adoración.

A mis otros hermanos, mis queridos amigos, confidentes y compañeros de vida: Martha, Víctor, Lex, Yessi, Fercho, Diana, Ame e Iris, por todos esos momentos de locura en mi vida y palabras de aliento en mis momentos difíciles, aunque no estemos siempre juntos, ustedes son parte de mí.

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a su bella Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, por abrirme las puertas del conocimiento, por enseñarme a ser auténtica y dar todo lo que tengo de mí, por las gratas experiencias y por mi formación profesional.

A mis asesores, el Doctor Miguel Ángel Alonso Díaz y la Doctora Elke von Son de Fernex, por depositar en mí su confianza y su paciencia, por sus valiosas enseñanzas, así como su gran ayuda y disponibilidad para la elaboración y culminación de este trabajo.

Al Centro de enseñanza, Investigación y Extensión en Ganadería Tropical ("El Clarín"), así como a su personal académico y administrativo, por haber contribuido tanto en mi desarrollo profesional como personal, en especial al Biólogo Germán Muñoz Córdova, Doctora Lucía del Rayo Caro, Inge Martha Salazar Ulloa, Chofis, Don Alex y Doña Celia, por su apoyo, consejos y amistad incondicional durante mi estancia.

A todos aquellos que me acompañaron durante mi estancia en el Clarín: Elvia, Aline, Fernando, Ramón, "las maris" (Marisela y María Fernanda), Arita, Kory, Normis, José, Meli, Pamela, Mario Alberto, Diego y Claus, por su gran apoyo en cada momento, las risas, el descontrol, por ser mis cómplices y amigos desde el momento en que nos conocimos, por hacer inolvidable mi estancia, mi familia del Clarín...

Asimismo, quiero agradecer a todas aquellas personas que, de manera voluntaria e involuntaria, han influido en mi desarrollo personal como profesional...

*...Grazie di cuore!
Tutto questo non sarebbe stato possibile senza di voi!*

CONTENIDO

	PÁG
RESUMEN	1
I. INTRODUCCIÓN	2
II. REVISIÓN DE LITERATURA	6
2.1. Nematodos gastrointestinales y su impacto en la ganadería bovina	6
2.1.2. Ciclo biológico de los nematodos gastrointestinales	10
2.2. Métodos de control de los nematodos gastrointestinales	14
2.2.1. Control químico	15
2.2.2. Métodos de control alternativos de los nematodos gastrointestinales	17
2.2.2.1. Uso de plantas forrajeras con efecto antihelmíntico	18
2.3. Metabolitos secundarios de las plantas (MSP)	20
2.4. Generalidades de leguminosas arbustivas para la alimentación del ganado	24
2.5. Descripción botánica de <i>Gliricidia sepium</i>	26
2.6. Valor nutricional y perfil fitoquímico de <i>Gliricidia sepium</i>	28
2.7. Efecto antihelmíntico de <i>Gliricidia sepium</i>	29
III. JUSTIFICACIÓN	31
IV. HIPÓTESIS	32
V. OBJETIVOS	33
VI. MATERIALES Y MÉTODOS	34

6.1. Localización geográfica	34
6.2. Animales	34
6.3. Material vegetativo de <i>Gliricidia sepium</i>	35
6.4. Diseño experimental	35
6.5. Toma y procesamiento de muestras	36
6.5.1. Forraje y follaje	36
6.5.2. Heces	37
6.5.3. Parásitos adultos	37
6.6. Mediciones y técnicas de laboratorio	38
6.6.1. Determinación del consumo voluntario	38
6.6.2. Determinación de la calidad nutricional del forraje y follaje	38
6.6.3. Cálculo de densidad larvaria en el potrero	38
6.6.4. Determinación de cargas parasitarias	39
6.6.5. Identificación de géneros parasitarios a partir de larvas infectantes	39
6.6.6. Estimación de población adulta	39
6.6.7. Identificación de géneros de parásitos adultos	39
6.6.8. Evaluación del desarrollo parasitario	40
6.6.9. Cálculo de fecundidad per cápita de las hembras parasitas:	40
6.7. Análisis estadístico	40
VII. RESULTADOS	42
7.1. Determinación de calidad nutricional y consumo de las dietas ofrecidas	42

7.1.1. Calidad nutricional de las dietas ofrecidas	42
7.1.2. Consumo de materia seca y de los componentes de las dietas ofrecidas	43
7.1.3. Consumo de proteína	44
7.2. Determinación de densidad larvaria en potrero	44
7.3. Efecto del consumo de <i>Gliricidia sepium</i> sobre la eliminación de huevos de nematodos gastrointestinales	45
7.3.1. Reducción de eliminación de huevos por gramo de heces	45
7.3.2. Relación del consumo de <i>Gliricidia sepium</i> con la eliminación de huevos por gramo de heces	46
7.3.3. Identificación de géneros de nematodos gastrointestinales por medio de larvas infectantes (L ₃) obtenidas a partir de coprocultivos	47
7.4. Efecto del consumo de <i>Gliricidia sepium</i> sobre la población de adultos de nematodos gastrointestinales	48
7.4.1. Estimación de población adulta	48
7.4.2. Identificación de géneros de nematodos gastrointestinales	48
7.4.3. Evaluación del desarrollo parasitario por morfometría	49
VIII. DISCUSIÓN	50
IX. CONCLUSIÓN	55
X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56

RESUMEN

MENDOZA MARTÍNEZ NANCY NOEMI. Evaluación del efecto antihelmíntico *in vivo* de *Gliricidia sepium* en bovinos infectados naturalmente con nematodos gastrointestinales (bajo la dirección de: Dr. Miguel Ángel Alonso Díaz y Dra. Elke von Son de Fernex).

Las infecciones por nematodos gastrointestinales (NGI) representan uno de los principales problemas de salud en bovinos en pastoreo. Las plantas con propiedades bioactivas se han estudiado en años recientes como un método de control alternativo con la finalidad de disminuir la dependencia a los antihelmínticos químicos y con ello, mermar también la aparición de cepas de NGI multirresistentes a estos fármacos. El objetivo de este trabajo fue determinar la actividad antihelmíntica (AH) de *Gliricidia sepium* sobre NGI en bovinos infectados naturalmente. Se utilizaron 12 becerros F1 (Holstein x Cebú) y 5 / 8 Holstein x Cebú, distribuidos en dos grupos (n= 6): G1, tratamiento y G2, control. Durante el experimento, los animales se mantuvieron en un sistema de pastoreo rotacional, al G1 se le ofreció hojas frescas de *G. sepium ad libitum* y al G2 se le suplementó con alimento comercial y henificado durante cuatro horas. Al final del experimento, se sacrificó un animal de cada grupo para colectar los parásitos adultos presentes en el tracto gastrointestinal. Durante el experimento, se observó una tendencia a la reducción entre 40.00 - 66.67% en la eliminación de hpgh ($P > 0.05$). Al sacrificio, no se observó diferencia en la carga parasitaria entre los dos animales ($P > 0.05$), pero se encontraron diferencias en las longitudes de los géneros *Haemonchus* spp y *Cooperia* spp ($P < 0.05$) y en la fertilidad per cápita de las hembras (G1: 3.57; G2: 0). El efecto AH de *Gliricidia sepium* es dosis – dependiente, siendo necesario realizar más estudios en infecciones naturales que evalúen su potencial en campo.

I. INTRODUCCIÓN

Las infecciones por nematodos gastrointestinales (NGI) representan uno de los principales problemas de salud en la producción de rumiantes en pastoreo (Hoste *et al.*, 2012). Estas parasitosis afectan la salud y el bienestar animal debido a los signos que provocan, como inapetencia, anemia y pérdida de proteínas plasmáticas en el tracto gastrointestinal. También alteran el metabolismo proteico, de minerales, deprimen la actividad de algunas enzimas intestinales, hay pérdida de peso, diarrea y, en casos severos, hasta la muerte del animal (Soulsby, 1987). La forma de control más común de los NGI es el uso recurrente de antihelmínticos sintéticos de forma preventiva o de forma curativa (Hoste *et al.*, 2011); sin embargo, en los últimos años se ha reportado un incremento de unidades de producción de rumiantes con NGI resistentes a estos fármacos (Waller, 2006), en especial en las zonas tropicales de nuestro país (Canul Ku *et al.*, 2012). Por este motivo, y aunado a la creciente preocupación de los consumidores sobre los posibles residuos de estas moléculas sintéticas en los productos alimenticios o en el medio ambiente, es necesario investigar y desarrollar métodos de control alternativos, como el uso de plantas medicinales (Hoste *et al.*, 2011).

El uso de plantas y/o sus extractos con propósitos medicinales en humanos y en animales, se ha realizado desde la antigüedad y en muchos casos son el núcleo de tratamientos en medicina humana y veterinaria. Se estima que más del 30 % de los medicamentos introducidos al mercado tienen, directa o indirectamente, origen natural (Wilcox *et al.*, 2001; Schmidt *et al.*, 2007).

En los últimos años se han reportado plantas o extractos de plantas, que se utilizan como alimento para el ganado en clima templado y tropical, que además poseen propiedades antihelmínticas (AH) debido a los metabolitos secundarios que contienen (Nguyen *et al.*, 2005; Hoste *et al.*, 2006; Hoste y Torres Acosta, 2011; Novobilský *et al.*, 2011; Hoste, *et al.*, 2011, 2012). Posiblemente los taninos condensados (TC) son el grupo de metabolitos secundarios que más se han relacionado con el efecto AH en rumiantes; no obstante, estas plantas también pueden poseer otros compuestos secundarios como saponinas, terpenoides, alcaloides, otros compuestos polifenólicos, y aminoácidos no proteicos que pueden estar relacionados con el efecto antihelmíntico (Githiori *et al.*, 2006; Athanasiadou *et al.*, 2007).

Existen estudios *in vitro* e *in vivo* del efecto de leguminosas con metabolitos secundarios sobre el control de NGI de pequeños rumiantes (Ademola *et al.*, 2004; Alonso Díaz *et al.*, 2008a, b; Oliveira *et al.*, 2011; Hoste *et al.*, 2012; Vargas Magaña *et al.*, 2014). La mayoría de los estudios *in vitro* han relacionado la presencia de compuestos polifenólicos y/o taninos sobre la biología de tres pasos del ciclo de vida de los NGI: 1) la inhibición del desenvaine larvario (Alonso Díaz *et al.*, 2008a, b; Novobilský *et al.*, 2011; Oliveira *et al.*, 2011; von Son de Fernex *et al.*, 2012, 2014b), 2) la actividad ovicida (Vargas Magaña *et al.*, 2014; von Son de Fernex *et al.*, 2016a) y, 3) la inhibición de la motilidad de la larva infectante (L₃) (Alonso Díaz *et al.*, 2008a, b; von Son de Fernex *et al.*, 2012). Mientras que los estudios *in vivo*, que se han enfocado en corroborar la eficacia de dichos forrajes (Barry y Manley, 1984), han identificado tres impactos sobre el ciclo de vida de los

NGI: 1) la disminución del establecimiento de la larva infectante (L₃) en el hospedero (Brunet *et al.*, 2007, 2008; Moreno Gonzalo *et al.*, 2013), 2) la disminución de la excreción de huevos por los nematodos adultos, el cual se relaciona con la reducción en el número de helmintos y/o baja fertilidad de las hembras (Marley *et al.*, 2003; Shaik *et al.*, 2004, 2006; Heckendorn *et al.*, 2006; Lange *et al.*, 2006; Cenci *et al.*, 2007; Martínez Ortiz de Montellano *et al.*, 2010; Moreno Gonzalo *et al.*, 2013) y, 3) inhibición de la eclosión larvaria (Niezen *et al.*, 2002).

En contraparte, existen pocos estudios *in vitro* e *in vivo* evaluando el efecto de las plantas sobre NGI en bovinos. Novobilský *et al.* (2011, 2013), al evaluar el efecto *in vitro* de tres leguminosas de clima templado (*Onobrychis viciifolia*, *Lotus pedunculatus* y *Lotus corniculatus*) contra *Cooperia oncophora* y *Ostertagia ostertagi* de bovinos, reportaron un efecto AH dosis – dependiente que se relacionó a los taninos condensados como el principal compuesto con propiedades antihelmínticas. Similares resultados fueron reportados por von Son de Fernex *et al.* (2014b, 2016) quienes reportaron el efecto antihelmíntico *in vitro* de leguminosas y fabáceas de clima tropical (*Leucaena leucocephala*, *Gliricidia sepium*, *Guazuma ulmifolia*, *Cratylia argentea* y *Azadirachta indica*) sobre el desenvaine larvario y la eclosión de huevos de *Cooperia* spp.

Al evaluar el efecto AH *in vivo* de hojas frescas de *Gliricidia sepium* ofrecidas *ad libitum* a bovinos infectados artificialmente con *Cooperia punctata*, se reportó una reducción en el establecimiento larvario del 76.9% (von Son de Fernex, 2016). Sin embargo, es necesario continuar evaluando el efecto de esta planta sobre otros géneros parasitarios que infectan naturalmente a los bovinos en el trópico húmedo de México.

En este estudio se seleccionó la leguminosa arborea tropical *Gliricidia sepium*, nativa de México y Centroamérica (Orwa *et al.*, 2009). El follaje de esta planta posee un alto valor nutricional, en base seca contiene 15.4 – 28.8% de proteína cruda (PC) y 14.4 – 28.4% de fibra cruda (FC) (Adejumo y Ademosun, 1985; Gómez *et al.*, 1990; Francisco y Hernández, 1998; Araque *et al.*, 2006; Heuzé y Tran, 2015). La composición fitoquímica de *Gliricidia sepium* de acuerdo a Akharaiyi *et al.* (2012) y Sinha (2013) presenta un porcentaje de alcaloides de 6.8-7.5%, 0.45-0.47mg/mL de flavonoides, 5.81-5.85mg/mL de saponinas, 0.10-0.12mg/mL de taninos y 1.5-1.7mg/mL de fenoles totales.

El objetivo de este trabajo fue determinar la actividad antihelmíntica *in vivo* del consumo de *Gliricidia sepium* sobre infecciones naturales de nematodos gastrointestinales en ganado bovino bajo condiciones de pastoreo en el trópico húmedo mexicano.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Nematodos gastrointestinales y su impacto en la ganadería bovina

La ganadería en México ocupa más del 50% del territorio nacional y mantiene cerca de 32 millones de cabezas de ganado bovino (Magaña Monforte *et al.*, 2006). De acuerdo con Financiera Nacional de Desarrollo Agropecuario, Rural, Forestal y Pesquero (FDN) y el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) en el año 2014, existen 1.1 millones de unidades de producción bovina que representan 43% de la producción pecuaria nacional. Los sistemas de producción de doble propósito se localizan principalmente en la región tropical, que comprende el 25% del territorio nacional (Fundación Produce Veracruz y Colegio de Postgraduados, 2003). La producción cárnica y lechera nacional registrados en el año 2014, fue de 1.8 millones de toneladas de carne y 11.1 millones de toneladas de leche (FDN, 2014; SIAP, 2014); a pesar de esto, México es el cuarto país importador neto de alimentos en el mundo, lo que representa un fuerte impacto en la seguridad alimentaria nacional (Dávalos Flores, 2015). De acuerdo a García Winder (2011), la producción nacional sólo abastece el 31.4 % y 67 % de la demanda mexicana de carne y leche, respectivamente; por lo tanto, es necesario optimizar las unidades de producción bovina (UPB) existentes.

En las zonas tropicales, las nematodosis son una de las limitantes para el crecimiento de la producción cárnica y lechera, especialmente en los sistemas de producción de doble propósito (Encalada Mena *et al.*, 2009). Estas parasitosis por

NGI afectan al ganado joven principalmente (Forbes *et al.*, 2000; Charlier *et al.*, 2009; Encalada Mena *et al.*, 2009); sin embargo, hay estudios que demuestran que el ganado adulto, y en particular el ganado lechero, también puede verse afectado (Sánchez *et al.*, 2004; Mertz *et al.*, 2005; Charlier *et al.*, 2009; Stromberg *et al.*, 2012), en gran parte ocasionando pérdidas de naturaleza subclínica (Corwin, 1997; Encalada Mena *et al.*, 2009; Charlier *et al.*, 2014).

Las parasitosis por NGI tienen una distribución mundial, y la prevalencia de los géneros que afectan a los bovinos varía de acuerdo a las condiciones climáticas de cada región. Los géneros con mayor prevalencia en las regiones templadas son: *Haemonchus* spp., *Ostertagia* spp., y *Trichostrongylus* spp., en abomaso; *Cooperia* spp., *Nematodirus* spp., *Bunostomum* spp. en intestino delgado; y *Oesophagostomum* spp. en intestino grueso (Corwin 1997; Sánchez *et al.*, 2004; Charlier *et al.*, 2009, 2014, 2015; Höglund *et al.*, 2010; Quiroz Romero, 2011; Kunkle *et al.*, 2013, Vanderstichel *et al.*, 2013; Walker *et al.*, 2013; Gasbarre, 2014; Geurden *et al.*, 2015); mientras que en las regiones tropicales y subtropicales, incluyendo México, los géneros con mayor prevalencia son: *Haemonchus* spp., *Ostertagia* spp., y *Mecistocirrus* spp. en abomaso; *Cooperia* spp., *Trichostrongylus* spp. y *Bunostomum* spp., en intestino delgado, y *Oesophagostomum* spp. en intestino grueso, (Fabiyyi, 1987; Domínguez Alpízar *et al.*, 1993; Olivares *et al.*, 2006; Vázquez Prats *et al.*, 2004; Encalada Mena *et al.*, 2009; von Son de Fernex *et al.*, 2014a). De estos géneros, *Cooperia* spp. y *Ostertagia ostertagi* presentan importancia productiva y económica considerable

en bovinos tanto de clima templado como tropical (Fabiyyi, 1987; Corwin, 1997; Stromberg *et al.*, 2012; Charlier *et al.*, 2014, 2015).

El desarrollo de estas enfermedades en el ganado provoca pérdidas en la productividad de los animales de diversas formas. Una característica común de las infecciones por NGI, es la disminución en el consumo de alimento que está vinculado con los cambios hormonales en el hospedero, y se cree que es el principal mecanismo de impacto de producción subclínica (Charlier *et al.*, 2014). Forbes *et al.* (2000) reportaron en un estudio con vaquillas en pastoreo, que los animales parasitados con NGI pasaron 105 minutos menos de tiempo por día en promedio en pastoreo y la ingesta diaria de forraje fue de 0.78 Kg de materia seca (MS) por día menor a la de los animales tratados con antihelmínticos. Shaw *et al.* (1998) reportaron una disminución en la ganancia diaria de peso en becerros con infecciones subclínicas y clínicas de NGI, en un meta-análisis (85 trabajos en Europa oriental) se encontraron mermas de 150 – 315 g/día/animal en promedio. Resultados similares se reportaron por Kunkle *et al.* (2013) y Walker *et al.* (2013) quienes al evaluar el efecto de las parasitosis con NGI en becerros de cruzas cárnicas y raza Angus encontraron una pérdida en la ganancia de peso de 165 g/día/animal y 130 – 170 g/día/animal en promedio, respectivamente. También reportaron que las nematodosis afectaron la deposición de grasa en la canal así como su calidad, que está directamente relacionada con el crecimiento y ganancia diaria de peso (Mertz *et al.*, 2005).

En cuanto a las mermas en la producción láctea causadas por las nematodosis gastrointestinales, en un estudio de meta-análisis realizado por Sánchez *et al.* (2004) a 75 trabajos publicados entre los años 1972 a 2002 en condiciones de producción intensiva en climas templados y con vacas especializadas en producción láctea, encontró que la producción disminuye 0.35 kg/día/vaca. Recientemente, en condiciones de clima templado y con vacas especializadas en producción de leche, Charlier *et al.* (2009) encontraron una disminución de 1 kg de producción por vaca al día en promedio al realizar la revisión y análisis de diversos estudios durante la lactancia.

Asimismo, existen estudios que muestran que hay repercusión en el desempeño reproductivo. Las vacas infectadas con NGI tienen una disminución de la tasa de concepción, y del porcentaje de parición, así como un aumento del intervalo parto - concepción (Hawkins, 1993; Gross *et al.*, 1999)

Otra de las causas que repercuten en las pérdidas económicas ocasionadas por los NGI, son los costos por medicamentos antihelmínticos, así como mano de obra asociada al control de estas enfermedades como parte de los programas de salud en las unidades de producción bovina (Corwin, 1997; Charlier *et al.*, 2009).

En países bajos, las pérdidas económicas estimadas por NGI fueron de 120 millones de dólares anuales (Corwin, 1997); en Nueva Zelanda, Bisset (1994) reportó un gasto anual aproximado de 27.9 millones de dólares por la compra de AHs; mientras que Williams y Loyacano (2001) reportaron para Estados Unidos un

gasto anual aproximado de 2.5 billones de dólares en la compra de desparasitantes, principalmente por nematodosis (Walker *et al.*, 2013).

En Latinoamérica, las pérdidas económicas estimadas por parasitosis en Brasil en el año 2011 fueron de 13.26 millones de dólares al año, de los cuales 7.11 millones corresponden a infecciones por NGI con una pérdida potencial de 1.87 millones para la industria lechera y 5.23 millones de dólares para la industria cárnica (Grisi *et al.*, 2014). En México, se estimó que las pérdidas económicas asociadas a estas enfermedades son de 445.10 millones de dólares anuales considerando únicamente las pérdidas en producción láctea y ganancia diaria de peso en animales sin tratamiento (Rodríguez Vivas *et al.*, 2017).

Son muchos los estudios que concuerdan que los NGI amenazan la sustentabilidad a largo plazo de las unidades de producción bovinas, por lo que la investigación y desarrollo de métodos de control alternativos podría ayudar a minimizar dichas pérdidas económicas.

2.1.2. Ciclo biológico de los nematodos gastrointestinales

El ciclo biológico de la mayoría de los NGI del orden *Strongylida* es directo, y se divide en dos fases: 1) fase exógena, pre-parasítica o de vida libre, que involucra huevo, larva uno (L₁), larva dos (L₂) y larva 3 (L₃), y 2) fase endógena o parasítica, la cual involucra Larva 3 (L₃), larva 4 (L₄), larva 5 (L₅) o adultos inmaduros y adultos (Bowman, 2014).

En la fase exógena, los huevos son eliminados al ambiente por las heces, éstos presentan una forma ovoide, con superficie lisa, son incoloros y blastómeros (16 – 32 blastómeros según la especie), con excepción de *Nematodirus* spp. que presenta 8 blastómeros (Cordero del Campillo y Rojo Vázquez, 2001). Los huevos eclosionan a L₁ bajo condiciones favorables de temperatura (20°C), oxígeno y humedad (80%) en las primeras 24 – 30 horas, ésta se alimenta de las bacterias que se encuentran en las heces, para posteriormente en los siguientes 2 a 3 días realizar la ecdisis o muda a L₂, que también se alimenta de bacterias (con excepción de *Nematodirus* spp. en donde la L₁ se desarrolla a L₃ dentro del huevo). La larva realiza una segunda muda a L₃ o fase infectante en tres a siete días, según las condiciones ambientales, la fase infectante retiene la cutícula de la fase anterior conocida como vaina protegiéndola de las condiciones ambientales, pero evitando su alimentación, por lo que depende de sus reservas alimenticias para su supervivencia, y presenta diferentes tropismos que favorecen su continuidad y migración en el forraje como son el hidrotropismo positivo y fototropismo positivo a la luz tenue (Niezen *et al.*, 1998; Quiroz Romero, 2009). La L₃ migra de las heces (de manera horizontal y lateral) a través de la película de agua que cubre al forraje que sirve de alimento a los animales para infectarlos (Soulsby, 1988; Cordero del Campillo y Rojo Vázquez, 2001; Quiroz Romero, 2009; Bowman *et al.*, 2014). La migración larvaria, así como la localización de las mismas en el follaje, es un punto clave para la transmisión parasitaria (Silva *et al.*, 2008).

La fase endógena inicia cuando la L₃ es ingerida por un hospedero susceptible y tras su ingestión (en 30 minutos aproximadamente), las larvas desenvainan en el tracto gastrointestinal del animal, las larvas de nematodos del abomaso liberan la vaina en el tránsito rumino – omasal, y los que parasitan en el intestino delgado y grueso la liberan en el abomaso. El desenvaine ocurre por efecto de diversos estímulos del hospedero como son amortiguadores bicarbonato – CO₂, CO₂ gaseoso, balance bicarbonato: ácido carbónico y pH del contenido luminal (Rogers, 1960; Cordero del Campillo y Rojo Vázquez 2001), los cuales hacen que la larva secrete el fluido de desenvaine (constituido por enzimas, principalmente colagenasa y lipasa) que actúa sobre la cutícula provocando su ruptura y la larva ayudada por sus movimientos puede salir. Las larvas desenvainadas penetran en diversas zonas de la mucosa gastrointestinal, dependiendo del género parasitario; y en un periodo de uno a dos días muda a L₄, la cual permanece en la mucosa durante un periodo de 10 a 14 días; subsecuentemente emergen al lumen realizando una ecdisis a L₅ o adultos juveniles que maduran sexualmente, pasando a hembras y machos adultos (Cordero del Campillo y Rojo Vázquez, 2001; Bowman, 2014). La eliminación de huevos inicia, en promedio, alrededor de la cuarta semana post-infección (Bowman, 2014).

Dentro del ciclo de vida de los NGI se encuentra un proceso conocido como “hipobiosis” de carácter heredable, que altera el ciclo normal de estos parásitos, en donde la L₄ puede someterse a un periodo de desarrollo detenido o aletargado; después de la infección, las larvas pueden convertirse en metabólicamente

inactivas (larvas “hipobióticas”) durante un periodo que puede durar varios meses y luego reanudar el desarrollo. Este fenómeno aumenta los periodos de patencia y prepatencia, así como longevidad y fecundidad de los NGI (Gibbs, 1986), especialmente cuando las condiciones son adversas para el desarrollo y supervivencia de los parásitos (Bowman, 2014). Entre los factores que desencadenan este estado de inactividad metabólica se encuentran los relacionados con el ambiente, con el hospedero y con el parásito (Gibbs, 1986), los cuales no son excluyentes entre sí. Dentro de los primeros, se encuentra la temperatura, siendo en las regiones templadas el fenómeno relacionado a las bajas temperaturas y en las regiones tropicales y subtropicales a altas temperaturas; humedad y fotoperiodo, este último afecta tanto a las larvas como al hospedero (Gibbs, 1986; Armour y Duncan, 1997; Fernández *et al.*, 1999).

En los factores relacionados con el hospedero, se encuentra la regulación por parte del sistema inmune, ya que se ha observado que animales expuestos previamente a los parásitos presentan una acumulación de larvas hipobióticas en comparación a los no expuestos, y la maduración de éstas ocurre cuando el sistema inmunológico del hospedero puede deprimirse, como es en el caso del parto donde se producen alteraciones endocrinológicas que cambian los niveles de corticosteroides o por estrés provocado por enfermedades intercurrentes (Gibbs, 1986; Armour y Duncan, 1987); así como el estado nutricional del hospedero, ya que éste influye sobre el sistema inmunológico (Walkden Brown y Kahn, 2002). Dentro de los últimos, se encuentra la regulación de la población dependiente de la densidad, en donde la presencia de cierto número de parásitos

adultos puede enviar señales a las larvas recién ingeridas por el hospedero que induzcan la hipobiosis, ya que se ha observado que la eliminación de los adultos por tratamiento antihelmíntico o por pérdida natural permite la maduración de las larvas hipobióticas (Armour y Duncan, 1987), aunque también se ha observado que puede estar inmunológicamente mediado por el hospedero debido a que con altas cargas parasitarias de nematodos adultos se genera una posible “retroalimentación inmunológica” que induce el desarrollo inhibido (Gibbs, 1986).

2.2. Métodos de control de los nematodos gastrointestinales

El objetivo del control de NGI es mantener poblaciones de parásitos, por medio de la interrupción de su ciclo biológico, dentro de un nivel que no sea afectada la salud y la productividad del animal, sin ejercer presión de selección de cepas resistentes a las formas de control a largo plazo. Existe una amplia gama de métodos de control, que se clasifican en químicas, inmunológicas, de manejo y biológicas (Jackson y Miller, 2006). El control sustentable de los NGI debe adaptarse de acuerdo a la epidemiología dentro de cada región geográfica y a las condiciones individuales de la unidad de producción bovina acorde al sistema de producción, manejo zootécnico y/o médico, así como las condiciones relacionadas con el hospedero (Torres Acosta y Hoste. 2008).

2.2.1. Control químico

Desde la introducción del primer antihelmíntico sintético comercial en 1940 (Waller, 2006), la forma de control de NGI se ha basado en el uso de estos fármacos de forma preventiva o de forma curativa (Hoste *et al.*, 2011; Canul Ku *et al.*, 2012). Las moléculas químicas más utilizadas pertenecen a las familias de los imidazotiazoles (ej. levamisol), lactonas macrocíclicas (ej. ivermectina, doramectina, moxidectina y eprinomectina) y benzimidazoles (ej. albendazol) (Sutherland y Scott, 2009; Bowman 2014). Estas moléculas, han presentado “practicidad” en el control de los NGI para los ganaderos a nivel mundial, debido a su fácil adquisición, múltiples presentaciones, sencilla aplicación, amplio espectro, larga duración del efecto de sus formulaciones (en algunos casos), así como los beneficios en la salud y desempeño productivo de los animales. Sin embargo, la elevada frecuencia en la utilización de AH, el no rotar entre familias químicas de AH, el no pesar a los animales antes de la administración de AH aplicando dosis inadecuadas (sub o sobre dosificaciones), así como la alteración de poblaciones de parásitos *in refugia* (Encalada Mena *et al.*, 2008; Arnaud Ochoa y Alonso Díaz, 2012; Canul Ku *et al.*, 2012; Becerra Nava *et al.* 2014; Muñiz Lagunes *et al.*, 2015), han ejercido en pocos años presión sobre los NGI, desarrollando mecanismos que aseguran su supervivencia ante estos fármacos.

La Organización Mundial de la Salud define como resistencia antihelmíntica (RAH) a la capacidad hereditaria que poseen los parásitos de tolerar y sobrevivir a dosis terapéuticas de un compuesto AH, siendo esta reducción de la sensibilidad a la acción de un fármaco expresada como la

disminución de la frecuencia de los parásitos individuales afectados por la exposición al fármaco, en comparación con la frecuencia observada en la misma población inicial o antes de la exposición (Cavalli, 1952). La RAH en bovinos se ha considerado de menor relevancia con respecto a los pequeños rumiantes, debido a las prácticas utilizadas de manejo de AH químicos y de pastoreo (Coles, 2002). No obstante, en los últimos años se ha reportado la aparición de resistencia antihelmíntica en unidades de producción bovina ante estos fármacos en todo el mundo de manera alarmante (Sutherland y Leathwick, 2011).

En México, los estudios que reportan la RAH en bovinos se enlistan en el Cuadro 1, estos demuestran que la dependencia ante estas moléculas se ha convertido en un grave problema en las unidades de producción bovinas, sobre todo en las regiones tropicales de nuestro país, siendo necesarias otras formas de control sustentables a largo plazo, como son los métodos de control alternativos.

Cuadro 1. Reportes de resistencia a antihelmínticos químicos en unidades de producción bovina en México.

Familia química	Molécula	Referencia
Lactonas macrocíclicas	Ivermectina	Encalada Mena <i>et al</i> (2008); Canul Ku <i>et al.</i> (2012); Muñiz Lagunes <i>et al.</i> (2015)
Benzimidazoles	Albendazol	Arnaud Ochoa y Alonso Díaz (2012)
Imidazotiazoles	Levamisol	Becerra Nava <i>et al.</i> (2014)

2.2.2. Métodos de control alternativos de los nematodos gastrointestinales

Debido a las implicaciones negativas que presentan los métodos de control químicos en la ganadería, en los últimos años se ha prestado atención al desarrollo de métodos de control no farmacológicos de NGI en rumiantes, los cuales presentan tres principios de acción en la interrupción del ciclo de vida de los parásitos: 1) Agostar la fuente de contaminación: con la reducción del contacto entre el hospedador y la fase infectante (L₃) mediante del manejo de pastoreo y el control biológico por medio de hongos, nematodos, virus, bacterias, lombrices de tierra, colémbolos y ácaros nematófagos; 2) Aumentar la resistencia del hospedero: con la estimulación de la respuesta inmune del hospedero, por medio de la inmunonutrición, vacunación y selección genética; y 3) Eliminación del parásito: mediante la eliminación de los nematodos del hospedero, mediante el uso de plantas bioactivas o medicinales, agujas de cobre y estrategias de desparasitación selectiva con los antihelmínticos comerciales (Hoste y Torres Acosta, 2011). En este trabajo se describirá el uso de plantas bioactivas como método de control alternativo utilizable en bovinos.

2.2.2. Uso de plantas forrajeras con efecto antihelmíntico

Antes del siglo XX, los tratamientos para enfermedades tanto de uso humano y veterinario dependían casi exclusivamente en medicamentos obtenidos de fuentes naturales, como las plantas y/o sus extractos (Schmidt *et al.*, 2007). Aunque el uso de plantas con fines medicinales se basa en prácticas anecdóticas y se ha declinado su uso con el advenimiento de las moléculas sintéticas, en muchos casos son el núcleo de tratamientos en medicina humana y veterinaria, ya que se ha estimado que más del 30 % de los medicamentos introducidos al mercado tienen directa o indirectamente origen natural (Wilcox *et al.*, 2001; Schmidt *et al.*, 2007).

En los últimos 20 años, se han realizado estudios para identificar plantas y/o extractos con propiedades AH, así como para asegurar su seguridad y eficacia en su uso en animales. Estos estudios se han centrado en el uso de plantas con compuestos bioactivos, con énfasis en plantas leguminosas, a las que se les atribuye el nombre de plantas nutraceuticas o “alimentos funcionales” (Hoste *et al.*, 2012). Un nutraceutico se refiere a cualquier sustancia que pueda considerarse un alimento o parte de un alimento que proporciona beneficios para la salud, incluida la prevención y el tratamiento de enfermedades (Andlauer y Fürst, 2002).

Aunque se han realizado diversos estudios tanto *in vitro* como *in vivo* en donde se muestra el efecto AH de los compuestos bioactivos de plantas sobre diferentes estadios en distintas especies de NGI, éstos se han centrado en pequeños rumiantes (Ademola *et al.*, 2004; Alonso Díaz *et al.*, 2008a, b; Oliveira *et al.*, 2011; Hoste *et al.*, 2012; Vargas Magaña *et al.*, 2014).

En bovinos, son pocos los estudios que reportan el efecto de plantas bioactivas como método de control de NGL. Novobilský *et al.* (2011, 2013), al evaluar el efecto *in vitro* de tres leguminosas de clima templado (*Onobrychis viciifolia*, *Lotus pedunculatus* y *Lotus corniculatus*) contra *Cooperia oncophora* y *Ostertagia ostertagi* de bovinos, reportaron un efecto AH dosis – dependiente relacionando a los TC como el principal compuesto con propiedades AH. Similares resultados fueron reportados por von Son de Fernex *et al.* (2014b, 2016) quienes reportaron el efecto AH *in vitro* de leguminosas y fabáceas de clima tropical (*Leucaena leucocephala*, *Gliricidia sepium*, *Guazuma ulmifolia*, *Cratylia argentea* y *Azadirachta indica*) sobre el desenvaine larvario y la eclosión de huevos de *Cooperia* spp. von Son de Fernex (2016) al evaluar el efecto AH *in vivo* de *Gliricidia sepium* ofrecida *ad libitum* a bovinos infectados artificialmente con *Cooperia punctata*, reportó una reducción en el establecimiento larvario del 76.9%. Desrues *et al.* (2016a) reportó resultados similares al evaluar la actividad AH *in vitro* de cuatro monómeros flavonoles (flavan-3-ols), dos derivados galólicos y 14 fracciones de taninos condensados purificados obtenidos de plantas, sobre la motilidad de parásitos adultos de *Cooperia oncophora*. Asimismo, Desrues *et al.* (2016b), al ofrecer pellets de *Onobrychis viciifolia* a becerros infectados artificialmente con *Ostertagia ostertagi* y *Cooperia oncophora* reportaron una reducción en el establecimiento larvario de *Ostertagia ostertagi* del 50%.

2.3. Metabolitos secundarios de las plantas (MSP)

Los compuestos bioactivos o también conocidos como metabolitos secundarios de las plantas (MSP), son moléculas que son sintetizadas por distintas rutas metabólicas derivadas del metabolismo primario del carbono en las plantas, pero no tienen participación directa en los procesos de crecimiento, desarrollo y reproducción de las plantas. Muchos de estos compuestos sirven como hormonas, pigmentos, atrayentes de polinizadores, mecanismos de defensa ante insectos, microorganismos patógenos y herbívoros, además de actuar como agentes alelopáticos (es decir, que influyen en la competencia entre especies de plantas) (Croteau *et al.*, 2000; Ávalos García y Pérez Urria Carril, 2009).

El estudio de estos compuestos ha cobrado importancia en el área médica y médica veterinaria, debido a que muchos de éstos han mostrado efectos antimicrobianos, antifúngicos, anticancerígenos y antiparasitarios, siendo una alternativa viable ante los fármacos químicos (Schmidt *et al.*, 2007). En la actualidad, se conocen alrededor de 20 000 metabolitos secundarios, los cuales se clasifican en cuatro grupos:

- a) Terpenos / isoprenoides / terpenoides: Es el grupo con mayor número de compuestos bioactivos, se derivan de la fusión de unidades ramificadas de un monómero de cinco carbonos (5 C) conocido como isopreno, los cuales se clasifican de acuerdo a la cantidad de unidades de isopreno que éstos contengan, denominándose: hemiterpenos (5 C), monoterpenos (10 C), sesquiterpenos (15 C), diterpenos (20 C), triterpenos (30 C), tetraterpenos (40 C) y politerpenos cuando contienen más de ocho unidades de isopreno. Entre

las más de 40 000 moléculas encontradas en este grupo, se encuentran los esteroides y derivados de esteroides que presentan gran importancia médica (Croteau *et al.*, 2000; Schmidt *et al.*, 2007; Ávalos García y Pérez Urria Carril, 2009). Se ha reportado la actividad AH contra NGI y *Dictyocaulus viviparus* en algunos de estos compuestos, como la cucurbitacina B (un compuesto triterpénico) y las lactonas sesquiterpénicas crudas (Molan *et al.*, 2003; Marie Magdeleine *et al.*, 2009, 2010).

b) Alcaloides. Se consideran los MSP con mayor aportación a la medicina moderna, gracias a su gran actividad biológica como relajantes musculares, tranquilizantes, antitusivos, purgantes, anticancerígenos o analgésicos. Son compuestos (en su mayoría heterocíclicos) sintetizados a partir de aminoácidos como triptófano, tirosina, lisina, ornitina, arginina y fenilalanina. Se clasifican de acuerdo a los anillos presentes en la molécula del metabolito en: alcaloides isoquinolécicos, alcaloides quinolizidínicos, alcaloides pirrolizidínicos, alcaloides tropánicos y alcaloides indólicos. La alta actividad de estos metabolitos se debe a su similitud química con numerosos neurotransmisores, siendo a altas dosis, muy tóxicos (Croteau *et al.*, 2000; Schmidt *et al.*, 2007). Dentro de estas moléculas, se ha reportado actividad AH de tres alcaloides isoquinolécicos (protopina, D - coridalina y L – estilopina) (Satou *et al.*, 2002).

c) Compuestos fenólicos. Son metabolitos que derivan de un grupo fenol, un anillo aromático (fenil) unido a un grupo hidroxilo (OH⁻) generalmente de naturaleza ácida. Se clasifican de acuerdo con el número y posición de los anillos aromáticos, así como el número de grupos hidroxilo que éstos poseen,

constituyendo dos grupos de acuerdo a su complejidad química: i) fenoles simples y ii) compuestos polifenólicos. Entre estos compuestos se encuentran la lignina y sus derivados, flavonoides (antocianinas, isoflavonoides, flavonoides, flavonas, flavonoles y taninos condensados), cumarinas, estilbenos, arilpironas y estilpironas (Croteau *et al.*, 2000; Ávalos García y Pérez Urria Carril, 2009).

Los compuestos polifenólicos, como los TC y flavonoides, han mostrado actividad AH tanto *in vitro* como *in vivo* sobre diferentes especies de NGI (Hoste *et al.*, 2015). Aunque el mecanismo de acción de estos compuestos no está bien dilucidado, existen dos teorías acerca de su efecto en los NGI, gracias a su capacidad de unirse a las proteínas cambiando sus propiedades físicas y químicas, no excluyentes entre sí: la primera de ellas menciona que el efecto tipo farmacológico o “directo” al unirse a las proteínas de los NGI, sobre todo en la cutícula (rica en prolina e hidroxiprolina), cavidad bucal, esófago, cloaca y vulva y, el efecto “indirecto” el cual aumenta la resistencia inmunológica del hospedero, debido a que los compuestos polifenólicos se unen a la proteínas de los alimentos, protegiéndolas de la degradación ruminal, aumentando la cantidad de proteínas y aminoácidos que son absorbidos en el intestino delgado (Hoste *et al.*, 2006, 2012).

En los últimos años, estos estudios se han centrado en los TC, debido a que son los MSP con mayor distribución y también los mayormente estudiados en cuanto a su actividad biológica contra NGI (Hoste *et al.*, 2006; Hoste y Torres Acosta, 2011; Hoste *et al.*, 2012); no obstante, se han realizado estudios que han

identificado a otros compuestos fenólicos con actividad nematocida, como los estilbenos (Croteau *et al.*, 2000).

d) Glicósidos. Están compuestos por una molécula de azúcar que se condensa con otra que contiene un grupo hidroxilo, cuya característica principal es su actividad detergente. Se clasifican de acuerdo a la molécula con la que el azúcar se encuentra unida en saponinas (triterpenoides o esteroides), glicósidos cardíacos (lactonas) y glicósidos cianogénicos (compuestos nitrogenados) (Ávalos García y Pérez Urria Carril, 2009). Se ha reportado la actividad antihelmíntica atribuible a las saponinas sobre NGI en ovinos (Camurça Vasconcelos *et al.*, 2007; Marie Magdeleine *et al.*, 2009; Hernández Villegas *et al.*, 2011; Pérez Pérez *et al.*, 2014).

Los aminoácidos no proteicos, son aminoácidos que naturalmente no están codificados por el código genético de cualquier organismo, y se sintetizan por tres vías: por modificaciones estructurales de aminoácidos existentes (generalmente de origen proteico), por modificación de rutas existentes que sintetizan aminoácidos proteicos y por medio de nuevas rutas metabólicas (Barret, 1985; Seigler, 1998). Tienen como función ser un mecanismo de defensa ante depredadores, a los cuales provocan intoxicación por medio de la interferencia de los aminoácidos no proteicos en la síntesis proteica de los depredadores o por interacción con neurotransmisores (Huang *et al.*, 2011), algunos no son necesariamente tóxicos para los humanos y los animales (Bell, 2003). Estos metabolitos pueden ser potencialmente utilizados como antihelmínticos, ya que se

ha reportado a la cucurbitina con actividad nematocida (Marie Magdeleine *et al.*, 2009).

2.4. Generalidades de leguminosas arbustivas para la alimentación del ganado

En México, la ganadería bovina de doble propósito tiene gran importancia en climas cálidos, por sus bajos costos de inversión y la gran flexibilidad productiva que ofrece (Fundación Produce Veracruz y Colegio de Postgraduados, 2003; Magaña Monforte *et al.*, 2006). Este sistema tiene como base para la alimentación del ganado, el uso del pastoreo (rotacional o extensivo) con gramíneas tropicales nativas o inducidas (Magaña Monforte *et al.*, 2006). Pero una de las limitantes en este tipo de sistemas es la estacionalidad en la disponibilidad de materia seca (MS) y su valor nutricional bajo. Es común que los productores suplementen / complementen al ganado en la época de estiaje con insumos comerciales o subproductos agrícolas locales (Magaña Monforte *et al.*, 2006; Rojo Rubio *et al.*, 2009).

La producción y productividad ganadera mejora sustancialmente cuando se dispone de forraje en cantidad suficiente y con alto valor nutricional que satisfaga las necesidades nutricionales de los animales a bajo costo (Faría Mármol, 2006). Una alternativa a la suplementación o complementación con insumos comerciales, es la incorporación de leguminosas forrajeras en el sistema de pastoreo. Para esto, es necesario encontrar especies de leguminosas con un nivel de utilización

alto y persistencia a largo plazo, igualmente, es esencial que la cantidad y calidad del forraje utilizable sea alta, así como su accesibilidad y facilidad para su cosecha (Coates, 1995).

Las leguminosas arbustivas se pueden utilizar en el trópico en forma de bancos de proteína o en asociación con gramíneas debido a su alto aporte nutricional para la alimentación del ganado; contienen niveles de proteína cruda altos (120 - 300 g / kg MS) y niveles de fibra cruda (< 30%) bajos, lo cual favorece su consumo y digestibilidad (Topps, 1992). Las leguminosas también son apreciadas por sus variadas contribuciones en los sistemas agropecuarios (como cerco vivo, barreras rompevientos, barreras contra incendios, sombra para los cultivos), en el uso doméstico (como fuentes de madera, leña o carbón, alimento y remedios medicinales) así como su papel en la protección del medio ambiente (como fijadores de nitrógeno en el suelo, estabilizan terrenos evitando la erosión de los suelos, absorben dióxido de carbono, y sirven de sombra y refugio para fauna silvestre) (Shelton, 2000).

Posiblemente, uno de los inconvenientes para la alimentación del ganado es la presencia de los MSP considerados como factores anti - nutricionales (Topps, 1992; Shelton, 2000). Los MSP pueden alterar negativamente el valor nutricional de la leguminosa o presentar un impacto negativo en el desarrollo y salud de los animales. Los factores que pueden determinar los efectos benéficos o detrimentales en el hospedero, son la concentración y el tipo de MSP, así como la especie animal y su adaptación a las leguminosas (Shelton, 2000; Hoste *et al.*, 2006; Alonso Díaz *et al.*, 2010; Seth y Ghamba, 2015). Algunas investigaciones

acerca de la actividad AH de los MSP contenidos en leguminosas forrajeras utilizadas como alimento en rumiantes, han mostrado un efecto positivo sobre la salud y el desarrollo de los animales.

Una de las leguminosas que se utilizan para la alimentación de ganado en las zonas tropicales de México es *Gliricidia sepium* (Pinto Ruiz *et al.*, 2005; Jiménez Ferrer *et al.*, 2008). Estudios *in vitro* e *in vivo* han reportado actividad AH de *G. sepium* contra NGI en pequeños rumiantes y en bovinos (Wabo Poné *et al.*, 2011; Kabore *et al.*, 2012; Ríos de Álvarez *et al.*, 2012; von Son de Fernex *et al.*, 2012, 2014b; Puerto Abreu *et al.*, 2014; von Son de Fernex, 2016; von Son de Fernex *et al.*, 2016), mostrando que puede tener potencial para el control de NGI de bovinos en infecciones naturales bajo condiciones de pastoreo.

2.5. Descripción botánica de *Gliricidia sepium*

Gliricidia sepium (Jacq.) Kunth ex Walp. (Figura 1), también conocido comúnmente como cocuite, madre de cacao, matarratón y/o madero negro, es un árbol caducifolio nativo de México y Centroamérica que pertenece a la subfamilia Fabaceae de la familia Leguminosae (Parrotta, 2000; Orwa *et al.*, 2009). Llega a medir hasta 20 m de altura y presenta un tronco corto (30 cm a la altura del pecho) con corteza escamosa a ligeramente fisurada de color pardo amarillenta a pardo grisácea, sus ramas no tienen espinas y posee una copa esparcida e irregular con amplia cobertura de follaje. Sus hojas son compuestas, alternas, e imparipinnadas, miden de 12 a 30 cm de largo incluyendo el pecíolo, con 7 – 25 pecíolos de 3 a 8

cm de largo por 2 a 4 cm de ancho, ovados a elípticos, con el margen entero, de color verde brillante en su juventud. Florece durante la temporada seca, cuando los árboles se encuentran parcial o totalmente defoliados, las flores son pediculadas, de color rosa pálido a violáceo, se agrupan en racimos densos, tienen una longitud aproximada de 10 a 20 cm y se sitúan en las axilas de las hojas caídas. Sus frutos son vainas lineales dehiscentes a lo largo de dos suturas, aplanadas, de 10 a 20 cm de largo y 1 a 3 cm de ancho, agudas, péndulas, con nervadura fina, cada vaina presenta de 3 – 10 semillas, las vainas son de color verde claro cuando están en desarrollo y de color pardo oscuros cuando maduran (CONABIO; Parrotta, 2000; Orwa *et al.*, 2009).



Figura 1. Hojas y flores de *Gliricidia sepium* (Jacq.) Kunth ex Walp. Copyright 2014 por T.K. Lim.

2.6. Valor nutricional y perfil fitoquímico de *Gliricidia sepium*

Gliricidia sepium posee un valor nutricional alto, pero la calidad nutricional del follaje puede variar por la frecuencia de corte, época del año y edad del material vegetativo, mostrando variaciones en los valores reportados por distintos investigadores (Gómez *et al.*, 1990; Francisco y Hernández, 1998). Las hojas frescas de *G. sepium* poseen un contenido de MS de 19.6 – 37%, en base seca contiene 15.4 – 28.8% de proteína cruda (PC), 14.4 – 28.4% de fibra cruda (FC), 3.0 – 5.5 % de extracto etéreo (EE), 6.7 – 13.7% de cenizas y la energía digestible (ED) de 4.70 – 5.21 MCal (Adejumo y Ademosun, 1985; Francisco y Hernández, 1998; Benavides, 1999; Gómez *et al.*, 1990; Araque *et al.*, 2006; Heuzé y Tran, 2015).

Las hojas de *G. sepium* son una fuente de compuestos que poseen actividad biológica benéfica para la salud animal y humana. Esta leguminosa contiene alcaloides (6.8 - 7.5%), saponinas (5.81 - 5.85mg/mL), fenoles totales (1.5 - 1.7mg/mL), taninos (0.10 - 0.12mg/mL) y flavonoides (0.45 - 0.47mg/mL) (Akharaiyi *et al.*, 2012; Sinha, 2013).

2.7. Efecto antihelmíntico de *Gliricidia sepium*

En años recientes, se ha comprobado la actividad AH *in vitro* de *G. sepium* sobre NGI en pequeños rumiantes de manera dosis - dependiente. Los extractos de hojas de *G. sepium* tuvieron efecto ovicida, larvicida y sobre el desenvaine larvario *in vitro* sobre *H. contortus* así como en estrogilidos de ovinos (Cuadro 2).

Cuadro 2. Efecto antihelmíntico *in vitro* de *Gliricidia sepium* reportado en NGI de pequeños rumiantes

Efecto AH	Referencia
Ovicida	Wabo Poné <i>et al.</i> (2011); Kabore <i>et al.</i> (2012); Pérez Pérez <i>et al.</i> (2014); Puerto Abreu <i>et al.</i> (2014); von Son de Fernex <i>et al.</i> (2016)
Larvicida	Wabo Poné <i>et al.</i> (2011); Kabore <i>et al.</i> (2012); Ríos de Álvarez <i>et al.</i> (2012); Puerto Abreu <i>et al.</i> (2014)
Inhibición del desenvaine larvario	von Son de Fernex <i>et al.</i> (2012)

No obstante, son pocos los estudios que reportan el efecto AH tanto *in vitro* como *in vivo* de esta leguminosa en bovinos. von Son de Fernex *et al.* (2014b, 2016) al evaluar *in vitro* el efecto AH de *Gliricidia sepium* en *Cooperia punctata*, se reportó un efecto ovicida y sobre el desenvaine larvario de manera dosis – dependiente.

Se ha reportado el efecto AH *in vivo* de hojas frescas de *Gliricidia sepium*, en donde al ser ofrecidas *ad libitum* a bovinos infectados artificialmente con *Cooperia punctata*, se observó una reducción en el establecimiento larvario del 76.9% (von Son de Fernex, 2016).

Debido a que este forraje es rico en MSP, su actividad AH ha sido asociada a la presencia de compuestos polares, principalmente TC (Wabo Poné *et al.*, 2011; Kabore *et al.*, 2012; von Son de Fernex *et al.*, 2012; Pérez Pérez *et al.*, 2014; Puerto Abreu *et al.*, 2014), sin embargo, von Son de Fernex *et al.* (2016) al evaluar el efecto de los TC por medio de la adición de polietilenglicol (PEG) en la prueba *in vitro* de la inhibición de la eclosión de huevos de *Cooperia punctata*, no mostró la actividad biológica asociada a estos compuestos, sugiriendo la posible participación de otros MSP en el efecto AH de esta leguminosa que pueden actuar conjuntamente, entre los que se han asociado están los triterpenos, lectinas, saponinas, alcaloides y otros compuestos polares como los flavonoides (Kabore *et al.*, 2012; Ríos de Álvarez *et al.*, 2012; von Son de Fernex *et al.*, 2012; Pérez Pérez *et al.*, 2014; Puerto Abreu *et al.*, 2014; von Son de Fernex *et al.*, 2016).

III. JUSTIFICACIÓN

El control ineficiente de las enfermedades parasitarias en el ganado bovino en pastoreo, así como la creciente resistencia de las poblaciones de parásitos ante los antihelmínticos sintéticos, han hecho que las nematodosis gastrointestinales sean una de las principales causas de pérdidas económicas y de salud en los animales, principalmente en las regiones tropicales. Muchos de los estudios que se han realizado para evaluar las propiedades antihelmínticas de diferentes leguminosas han hecho énfasis en el control de nematodos gastrointestinales en pequeños rumiantes, por lo que se pretende evaluar en este estudio el potencial de leguminosas tropicales, en este caso *Gliricidia sepium*, para el control de parásitos gastrointestinales en bovinos.

IV. HIPÓTESIS

El consumo de *Gliricida sepium* por bovinos infectados naturalmente en el trópico húmedo mexicano mostrará un efecto antihelmíntico efectivo ($\geq 90\%$) en los nematodos gastrointestinales establecidos en el hospedero.

V. OBJETIVOS

5.2. Objetivo general

Determinar la actividad antihelmíntica *in vivo* del consumo de *Gliricidia sepium* sobre infecciones naturales de nematodos gastrointestinales en ganado bovino bajo condiciones de pastoreo en el trópico húmedo mexicano.

5.1. Objetivos específicos:

- 1) Evaluar la actividad antihelmíntica del consumo de *Gliricidia sepium* sobre la eliminación de huevos por medio de la cuantificación y reducción en la eliminación de huevos por gramo de heces.
- 2) Evaluar la actividad antihelmíntica del consumo de *Gliricidia sepium* sobre la población total de parásitos adultos en el tracto gastrointestinal por medio de la cuantificación de la población, la evaluación del desarrollo parasitario y de la fertilidad de las hembras parasitas.
- 3) Determinar el consumo voluntario y la calidad nutricional de *Gliricidia sepium* y del forraje en potrero.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Localización geográfica

El experimento se realizó en el módulo de producción de vaquillas F1 “La Soledad” del Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Ganadería Tropical de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Autónoma de México, localizado en el Km 3.5 del camino vecinal Martínez de la Torre – Novara, en el municipio de Atzalan, Veracruz. En esta zona predomina el clima cálido húmedo, con una temperatura promedio anual de 23.4°C y una precipitación pluvial de 1743 mm por año (García, 2004).

6.2. Animales

Se emplearon 12 becerros cruza *Bos taurus taurus* x *Bos taurus indicus*, de genotipo F1 (Holstein x Cebú) y 5/8 Holstein x Cebú de aproximadamente 5 - 6 meses de edad con un peso promedio de 127.2 ± 2.3 Kg, infectados naturalmente con nematodos gastrointestinales (eliminando más de 100 hpgh). Los animales se distribuyeron en dos grupos (n=6) de acuerdo a carga parasitaria a fin de tener cargas parasitarias homogéneas en ambos grupos. El grupo uno (G1), seis animales (cinco hembras y un macho) tratados con *Gliricidia sepium*; mientras que el grupo dos (G2), fueron seis animales (cuatro hembras y dos machos) que no recibieron ningún tratamiento (grupo control).

Todos los animales estuvieron bajo observación continua, se les ofertó una dieta isoprotéica, balanceada individualmente de acuerdo al aporte de la leguminosa; conjuntamente, tuvieron acceso a agua *ad libitum*, y se les ofreció melaza de manera individual. Los animales del estudio tuvieron un periodo de adaptación de siete días a la dieta. Los animales no fueron desparasitados al menos durante dos meses previos al inicio del experimento.

6.3. Material vegetativo de *Gliricidia sepium*

El material vegetativo que se utilizó fueron hojas frescas de *G. sepium*, las cuales se colectaron en el mes de octubre del 2016 en el área experimental del módulo de producción de vaquillas F1 del Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Ganadería Tropical de la FMVZ de la UNAM.

6.4. Diseño experimental

El presente estudio tuvo una duración de 18 días, los cuales se dividen en: i) periodo de adaptación, con una duración de siete días, ii) periodo experimental, con una duración de 11 días. Durante todo el periodo experimental, los animales de ambos grupos pastaron juntos, como dieta basal, en un área de ocho potreros con Pasto Toledo (*Brachiaria brizantha*), bajo un esquema de pastoreo rotacional con tres días de ocupación por 18 días de descanso.

Los animales del grupo uno (G1) se les ofreció hojas verdes de *Gliricidia sepium* *ad libitum* durante cuatro horas (9:00 a 13:00 h). El ofrecimiento de la planta se realizó en corraletas individuales (180 cm² área, 100 cm ancho x 180 cm largo x

140 cm altura) mediante un sistema de corte y acarreo, para tener un mejor control del consumo individual de MS y alimento comercial (12% PC) para tener la dieta balanceada isoprotéicamente en ambos grupos. Los animales del grupo dos (G2) se colocaron en corraletas durante el mismo periodo de tiempo, donde se les ofreció heno de pasto Estrella de África (*Cynodon plectostachyus*) y alimento comercial (12% PC). Después de este periodo, los animales de ambos grupos se llevaron al potrero para que pastorearan juntos.

Al término del estudio, se realizó el sacrificio humanitario de un animal de cada grupo, bajo los estándares dictados por la Norma Oficial Mexicana NOM-033-ZOO-1995 Sacrificio humanitario de los animales domésticos y silvestres y del Comité Interno para el Cuidado y Uso de los Animales (CICUA) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM. Inmediatamente después del sacrificio, se realizó la necropsia para retirar el tracto gastrointestinal (TGI) completo de cada animal para recuperar a los parásitos presentes con el fin de poder realizar su evaluación respectiva.

6.5. Toma y procesamiento de muestras

6.5.1. **Forraje y follaje:** Se tomó una muestra diaria de 500 g de hojas de *G. sepium*, del heno ofrecido y del forraje en potrero durante el periodo experimental para determinar su calidad nutricional. Asimismo, se tomó una muestra de 500 g de forraje de un potrero el día siete del experimento para

la estimación de la tasa de infección. Las muestras fueron identificadas, almacenadas en refrigeración (4°C) y transportadas al laboratorio de nutrición del CEIEGT para su procesamiento.

6.5.2. **Heces:** Cuatro semanas previas al estudio, se tomó una muestra individual semanal de heces y, diariamente durante el periodo experimental, directamente del recto de cada animal con bolsas de polietileno para determinar cargas parasitarias. Se realizó un coprocultivo por grupo experimental para la identificación de géneros parasitarios. Las muestras se identificaron y se transportaron en refrigeración (4°C) al laboratorio de sanidad animal del CEIEGT, hasta su procesamiento.

6.5.3. **Parásitos adultos.** Inmediato al sacrificio, se localizó el TGI de cada animal; para obtener el abomaso se realizó una doble ligadura con hilo cáñamo a una distancia de dos centímetros aproximadamente de las uniones omaso – abomasal para obtener el abomaso; para el intestino delgado se realizó la ligadura abomaso – duodenal tomando los primeros seis metros del intestino delgado y, para el intestino grueso fue a la altura de la válvula íleo – cecal hasta el recto. Cada una de las secciones obtenidas fue abierta y lavada para obtener el contenido luminal; los contenidos se lavaron con agua precalentada a través de tamices de 44 µm (número 325) y se almacenaron en recipientes individuales previamente identificados con una solución de formalina al 10% para su posterior análisis.

6.6. Mediciones y técnicas de laboratorio

- 6.6.1. **Determinación de consumo voluntario.** Se realizó mediante el pesaje del material vegetal ofrecido a cada uno de los animales y lo rechazado diariamente (Brunet *et al.*, 2008). El consumo de forraje en el potrero se calculó por el método comparativo de acuerdo a Haydock y Shaw (1975).
- 6.6.2. **Determinación de la calidad nutricional del forraje y follaje.** Se realizó el análisis químico proximal, en donde se determinó la cantidad de MS de acuerdo a la AOAC (1980). La proteína cruda (PC) se determinó por el método de Kjeldahl, el extracto etéreo (EE) por el método de Soxhlet, de acuerdo a la AOAC (1980). La cantidad de extractos libres de Nitrógeno (ELN) y cenizas se determinó de acuerdo a la metodología de la AOAC (1980).
- 6.6.3. **Cálculo de densidad larvaria en el potrero.** Se realizó por medio de la metodología descrita por Taylor (1939) en un potrero durante el periodo experimental. Se muestreo un día antes de que los animales entraran a pastar con la finalidad de determinar la cantidad de larvas por kg de MS. Se ejecutó un transecto a lo largo del potrero en forma de “W” en donde se hicieron 25 paradas cortando la hierba a una altura de 5 cm del suelo, colectando una muestra total de 500 g de forraje. El pasto colectado, se colocó en un aparato de Baermann durante 24 horas (Williams y Bilkovich. 1973), en donde se tomó un concentrado de 15 mL para realizar el conteo e identificación de L3 de acuerdo a las claves taxonómicas descritas por Nlec

(1968). Posteriormente se determinó la MS de la hierba de acuerdo a la AOAC (1980), para obtener el índice de infección en pasto.

6.6.4. **Determinación de cargas parasitarias.** Se cuantificó la eliminación de huevos de NGI por gramo de heces (hpgh) por medio de la técnica de McMaster (Besné *et al.*, 2007; Canul Ku *et al.*, 2012).

6.6.5. **Identificación de géneros parasitarios a partir de larvas infectantes.** Se realizaron coprocultivos del grupo tratado con *G. sepium* y del grupo control usando la técnica en caja de Petri y la recuperación larvaria se realizó con la técnica de Corticelli – Lai (Corticelli y Lai, 1963) con la cual se efectuó la identificación de las larvas infectantes (L₃) por las características morfológicas descritas por Niec (1968).

6.6.6. **Estimación de población adulta.** Se realizó el conteo del número de parásitos en el lumen de cada uno de los órganos de los animales sacrificados basada en un alícuota al 10% (Paolini *et al.*, 2003; Valderrábano *et al.*, 2010).

6.6.7. **Identificación de géneros de parásitos adultos.** Se recuperaron nematodos adultos de cada órgano de cada animal y se depositaron en cajas de Petri identificadas de acuerdo al animal y órgano donde fueron colectados con agua destilada. Se tomaron especímenes individualmente con una aguja y se montaron en portaobjetos para su identificación en el microscopio de acuerdo a las claves descritas por Torres Acosta *et al.* (2015).

6.6.8. **Evaluación del desarrollo parasitario.** Se realizó por medio de características morfométricas de acuerdo a lo descrito por Torres Acosta *et al.* (2015).

6.6.9. **Cálculo de fecundidad per cápita de las hembras parasitas.** Se realizó de acuerdo a lo descrito por Paolini *et al.* (2003); Valderrábano *et al.* (2010).

6.7. Análisis estadístico

La eficacia antihelmíntica se evaluó mediante la estimación en la reducción en la eliminación de huevos, por medio del cálculo del porcentaje de la reducción de huevos, con la siguiente fórmula (Coles *et al.*, 1992):

$$PR = 100 \left(1 - \frac{\bar{x} T}{\bar{x} C} \right)$$

Donde:

PR= Porcentaje de reducción

XT= Media aritmética del grupo tratado con *Gliricidia sepium*

XC= Media aritmética del grupo control negativo.

La fertilidad per cápita de las hembras parasitas se calculó con la siguiente fórmula (Paolini *et al.*, 2003; Valderrábano *et al.*, 2010):

$$FPC = \frac{HPGH \text{ obtenido el ultimo día del experimento}}{\text{No. de hembras recuperadas}}$$

Donde:

FPC: Fertilidad per cápita

HPGH: Huevos por gramo de heces

Para calcular la densidad larvaria del potrero se realizó por medio de la siguiente fórmula (Taylor, 1939):

$$L_3/MS = \frac{(1000 \times N)}{MS}$$

Donde:

L_3/MS : Número de larvas infectantes por kilogramo de materia seca,

N: Número de larvas contadas

MS: Peso de la materia seca en gramos.

Las diferencias entre grupos en la eliminación de huevos por gramo de heces y entre la cantidad de adultos encontrados, así como en el desarrollo parasitario por morfometría se evaluaron por medio de la prueba de Kruskal-Wallis (StatGraphics versión 16.1.18.). La relación entre el número de huevos y el consumo de *Gliricidia sepium* en el grupo tratado se realizó por medio del coeficiente de correlación de Spearman (StatGraphics versión 16.1.18). El efecto del tratamiento sobre el consumo de materia seca y sobre la cantidad de proteína ingerida por cada uno de los grupos se determinó por medio de análisis de varianza de un factor (StatGraphics versión 16.1.18).

VII. RESULTADOS

7.1. Determinación de calidad nutricional y consumo de las dietas ofrecidas

7.1.1. Calidad nutricional de las dietas ofrecidas

La composición química del forraje y del follaje ofrecido a los animales, se presenta en el cuadro 3. El follaje de *G. sepium* tuvo un porcentaje de proteína cruda (PC) de 24.82% y de energía digestible (ED) de 3.25 mega calorías por kilogramo de materia seca (Mcal/kg de MS). Con relación al forraje del potrero, en donde pastaron los animales de ambos grupos, la cantidad de PC fue de 7.72 % y de ED 2.93 Mcal/kg de MS. En cuanto a la calidad nutricional del heno de pasto estrella (*Cynodon plectostachius*) ofrecido al G2, el porcentaje de proteína cruda (PC) fue de 5.20%, y de ED de 2.63 mega calorías por Mcal/kg de MS.

Cuadro 3. Análisis químico proximal (en base seca) de los componentes de la dieta ofrecida a los animales de ambos grupos durante el periodo experimental.

Componente	<i>Gliricidia sepium</i> (G1)	Forraje en potrero (G1 y G2)	Forraje henificado (G2)
Proteína Cruda	24.82%	7.72%	5.20%
Extracto Etéreo	6.41%	8.41%	3.09%
Cenizas	7.84%	9.79%	11.69%
Fibra Cruda	8.68%	17.43%	19.71%
Extractos Libres de Nitrogeno	52.25%	56.65%	60.31%
Energía Digestible	3.25 Mcal/Kg	2.93 Mcal/Kg	2.63 Mcal/Kg

7.1.2. Consumo de materia seca y de los componentes de la dieta ofrecida

Con relación al consumo de MS, se observó que los animales del grupo tratado consumieron menos MS ($1.22 \pm 0.06\%$ de su peso vivo) en comparación al grupo control ($1.64 \pm 0.06\%$ de su peso vivo) ($p < 0.05$). El consumo por animal de *G. sepium* en promedio fue de 266.84 ± 28.14 g, que representó un porcentaje de inclusión en la dieta del $16.81 \pm 3.66\%$. El rango del consumo individual varió de 84.96 a 507.35 gramos.

El consumo aparente de pasto por animal en potrero fue de 1030 ± 0.09 g en base seca. Mientras que el consumo de heno ofrecido al grupo control por animal (*Cynodon plectostachius*) fue de 159.32 ± 13.32 gramos en promedio, presentando un porcentaje de inclusión en la dieta del $7.66 \pm 1.20\%$ y un rango de 75.68 a 310.77 gramos en el consumo individual.

El cuadro 4, muestra el consumo promedio en gramos de materia seca del alimento comercial ofrecido a los dos grupos durante el periodo experimental.

Cuadro 4. Consumo promedio de alimento comercial por animal durante el periodo experimental.

<i>Consumo de alimento comercial en base seca por animal</i>		
Animal	G1 Promedio/Animal (g) ± E.E.	G2
1	211.76 ± 5.57	716.27 ± 25.74
2	217.67 ± 5.74	986.45 ± 36.29
3	220.78 ± 5.83	696.84 ± 24.74
4	219.34 ± 5.80	695.05 ± 32.50
5	213.59 ± 5.63	834.06 ± 25.27
6	222.15 ± 5.85	1074.91 ± 19.53
Promedio (g)	217.55 ± 0.68	833.93 ± 27.20

G1: Grupo tratado con *G. sepium*; G2: grupo control; E.E.: Error estándar.

7.1.3. Consumo de proteína

De acuerdo con los análisis químicos y el consumo de materia seca, el consumo de PC promedio fue de 171.64 ± 16.91 g/día para el grupo tratado con *Gliricidia sepium* y de 187.67 ± 9.26 g/día para el grupo control, no encontrándose diferencias estadísticamente significativas entre grupos ($p > 0.05$).

7.2. Determinación de densidad larvaria en potrero

El índice de infección del pasto fue de 2127 L₃ por kilogramo de MS. Los animales tuvieron un consumo aproximado de larvas infectantes por día de 2190 L₃. El 96 % de las larvas infectantes en la pradera fueron *Cooperia* spp. y el 4 % *Haemonchus* spp.

7.3. Efecto del consumo de *Gliricidia sepium* sobre la eliminación de huevos de nematodos gastrointestinales

7.3.1. Reducción de eliminación de huevos por gramo de heces

En el cuadro 5, se muestra la eliminación de hpgh por día de los animales en ambos grupos experimentales. A partir del sexto día, se observó una reducción en la eliminación de hpgh en el grupo tratado con *Gliricidia sepium* con un porcentaje de reducción del 53.85%. Del día 7 al día 11, el porcentaje de reducción fluctuó del 40.91% al 66.67%. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre grupos ($p > 0.05$).

Cuadro 5. Eliminación promedio de huevos por gramo de heces durante el periodo experimental en los animales, así como el porcentaje en la reducción en la eliminación.

Eliminación promedio de huevos por gramo de heces			
Día de experimentación	G1 (Prom. \pm e.e.)	G2 (Prom. \pm e.e.)	Reducción en eliminación (%)
1	1600 \pm 905.32a	1300 \pm 563.72a	0
2	1200 \pm 643.35a	1150 \pm 432.82a	0
3	1100 \pm 569.90a	1000 \pm 346.21a	0
4	1200 \pm 576.00a	800 \pm 282.84a	0
5	1200 \pm 665.42a	700 \pm 282.47a	0
6	600 \pm 260.66a	1300 \pm 467.02a	53.85
7	650 \pm 303.77a	1100 \pm 361.94a	40.91
8	600 \pm 335.84a	1000 \pm 415.26a	40.00
9	400 \pm 267.94a	700 \pm 311.63a	42.86
10	300 \pm 207.26a	600 \pm 317.46a	50.00
11	100 \pm 71.88a	300 \pm 138.44a	66.67

G1: Grupo tratamiento; G2: Grupo control. Distinta literal entre las columnas de cada línea, indica diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$).

7.3.2. Relación consumo *Gliricidia sepium* con la eliminación de huevos por gramo de heces

La relación del consumo de *Gliricidia sepium* y la eliminación de huevos por gramo de heces (hpgh) en el grupo tratado se observa en la figura 2. Durante el periodo experimental, se observó un aumento en el consumo de *Gliricidia sepium* hasta el sexto día, lo cual coincide con la tendencia en la disminución en la eliminación de hpgh ($p > 0.05$).

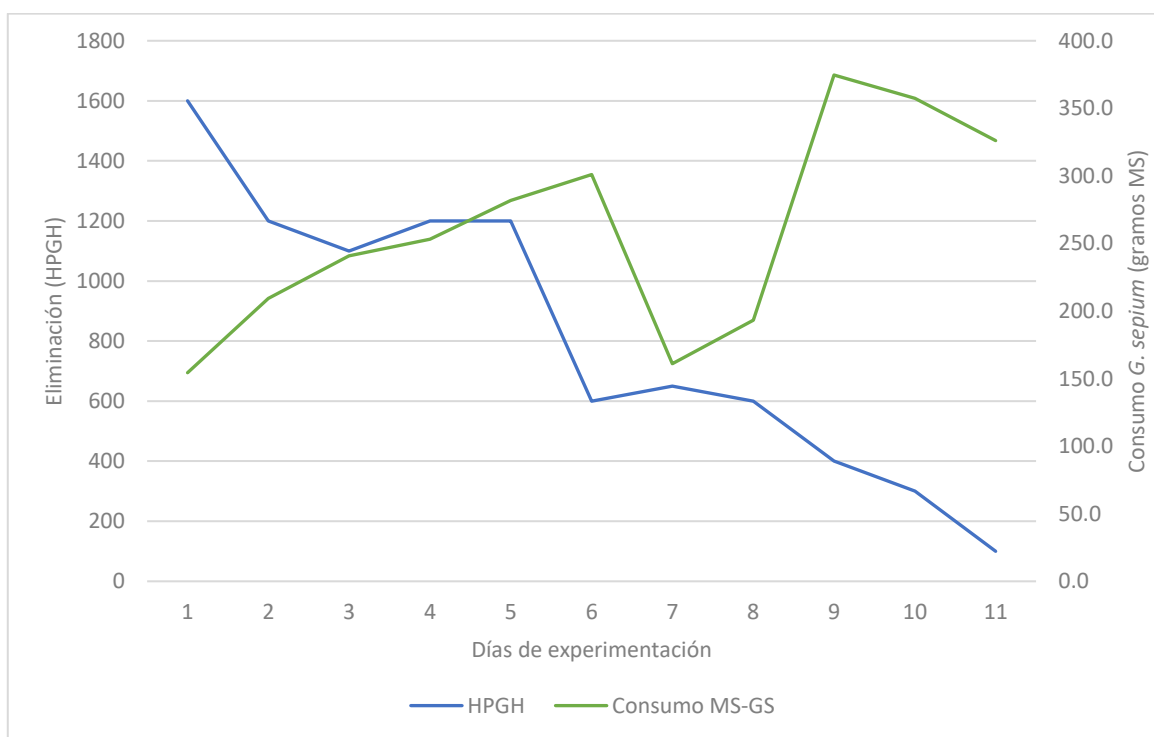


Figura 2. Relación del consumo de *Gliricidia sepium* con la eliminación de hpgh del grupo tratado.

7.3.3. Identificación de géneros de NGI por medio de larvas infectantes (L₃) obtenidas a partir de coprocultivos

Los géneros de NGI identificados en los coprocultivos se muestra en el cuadro 6. El género con mayor prevalencia fue *Cooperia* spp. en ambos grupos experimentales.

Cuadro 6. Géneros de NGI identificados en coprocultivos.

Porcentaje (%) de géneros de NGI durante periodo experimental								
Día	<i>Coop. spp</i>		<i>Haem. spp</i>		<i>Oesmun.spp</i>		<i>Bun. Spp</i>	
	G1	G2	G1	G2	G1	G2	G1	G2
1	100	86	0	4	0	0	0	10
2	99	88	1	5	0	0	0	7
3	91	88.14	7	10.17	1	0	1	1.69
4	100	87.63	0	11.34	0	0	0	1.03
5	83	90.67	13	9.33	4	0	0	0
6	91.8	88	8.1	4	0	0	0	8
7	79	92.31	3	7.69	18	0	0	0
8	94	91.67	2	0.0	4	8.33	0	0
9	50	100	0	0.00	50	0	0	0
10	100	100	0	0	0	0	0	0
11	0	0	0	100	0	0	0	0

G1: Grupo tratado con *G. sepium*; G2: Grupo control. *Coop.*: *Cooperia* spp., *Haem*: *Haemonchus* spp., *Oesmun.*: *Oesophagostomum* spp., *Bun.*: *Bunostomum* spp.

7.4. Efecto del consumo de *Gliricidia sepium* sobre la población de adultos de nematodos gastrointestinales

7.4.1. Estimación de población adulta

En el cuadro 7, se presenta el número de parásitos adultos recuperados a la necropsia.

Cuadro 7. Número de adultos recuperados en los animales sacrificados.

Sección TGI	G1	G2
Abomaso	64	868
Intestino delgado	2276	1350
Intestino grueso	28	216
Total	2368	2434

G1: Grupo tratado con *G. sepium*; G2: Grupo control.

7.4.2. Identificación de géneros de nematodos gastrointestinales

Los géneros de NGI en el TGI fueron *Haemonchus* spp, *Cooperia* spp., *Trichostrongylus* spp., *Bunostomum* spp., *Oesophagostomum* spp. y *Trichuris* spp. (cuadro 8). La cantidad de parásitos del género *Cooperia* spp. que se cuantificaron en el ID fue similar para ambos grupos (99 y 98%). La proporción macho: hembra de parásitos por órgano también fue similar; sin embargo, la fecundidad per cápita fue mayor en el grupo tratado con *G. sepium*, con un valor de 3.57, con respecto al control en donde el valor fue de cero.

Cuadro 8. Proporción de los géneros de NGI encontrados por órgano

Órgano	Género	G1	G2
AB.	<i>Haemonchus</i> spp	90%	29 %
	<i>Cooperia</i> spp.	0%	70%
	<i>Trichostrongylus</i> spp	10%	1%
I.D.	<i>Cooperia</i> spp	99%	98
	<i>Trichostrongylus</i> spp	0%	2%
	<i>Bunostomum</i> spp	1%	0%
I.G.	<i>Oesophagostomum</i> spp	80%	91%
	<i>Trichuris</i> spp	20%	9%

G1: Grupo tratado con *G. sepium*; G2: Grupo control, AB.: Abomaso, I.D.: Intestino delgado, I.G.: Intestino grueso

7.4.3. Evaluación del desarrollo parasitario por morfometría

En este trabajo, sólo se pudo medir el tamaño de *Haemonchus* spp. en abomaso y *Cooperia* spp. en intestino delgado de ambos animales. Las longitudes promedio de las hembras y machos recuperados de estos géneros parasitarios se encuentran en el cuadro 9. Para ambos géneros de parásitos, hubo diferencias estadísticamente significativas entre grupos experimentales ($p < 0.05$).

Cuadro 9. Longitudes promedio de machos y hembras (mm) de *Haemonchus* spp. y *Cooperia* spp. recuperados en los animales.

	<i>Haemonchus</i> spp		<i>Cooperia</i> spp	
	G1	G2	G1	G2
Hembras (mm)	12.24 ± 0.32a	14.89 ± 0.67b	6.0 ± 0.11a	7.32 ± 0.16b
Machos (mm)	10.09 ± 0.32a	12.5 ± 0.60b	4.68 ± 0.10a	5.46 ± 0.14b

G1: Grupo tratado con *Gliricidia sepium*; G2: Grupo control. Distinta literal entre columnas indica diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$).

VIII. DISCUSIÓN

El uso de plantas nutraceuticas se ha propuesto como un método de control alternativo para las parasitosis producidas por NGI. El objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad AH *in vivo* de *G. sepium* en infecciones naturales de bovinos, bajo condiciones de pastoreo. A partir del sexto día del tratamiento con *G. sepium*, se observó una tendencia a la reducción en la eliminación de huevos por gramo de heces (hpgh) que fluctuó de 40.91% a 66.67% en el grupo tratado. Ésta tendencia a la reducción en la eliminación de hpgh es menor a lo reportado por autores que evaluaron el efecto AH *in vivo* de leguminosas de clima templado en ovinos infectados con *Haemonchus contortus* (Marley *et al.*, 2003; Lange *et al.*, 2006). Son escasos los estudios *in vivo* sobre el efecto AH del consumo de hojas frescas de leguminosas por bovinos. González Torralba *et al.* (datos no publicados) al evaluar el efecto AH del consumo de hojas frescas de *Gliricidia sepium* en bovinos infectados artificialmente con *Cooperia punctata*, encontraron un porcentaje de reducción de hpgh que fluctuó entre un 43.53 % y 97.22 %. No obstante, estudios recientes reportan que el consumo de pellets de la leguminosa Sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) en bovinos infectados artificialmente con *O. ostertagi* y *C. oncophora* no mostró diferencias en la eliminación de huevos entre grupos experimentales (Desrues *et al.*, 2016b).

Las diferencias encontradas entre los diversos trabajos de investigación *in vivo* pueden estar asociadas a factores directamente relacionados con la planta (especie de leguminosa; incluyendo la naturaleza y concentración de metabolitos secundarios) y al diseño experimental (cantidad y tiempo de oferta de la

leguminosa, así como la composición de las dietas basales de los animales experimentales). Uno de los factores que más puede influir sobre el efecto AH *in vivo* de una planta bioactiva es el consumo de la misma por los animales. En este estudio, el consumo de *Gliricidia sepium* fue bajo (266.84 ± 25.06 g MS/ animal) en comparación a otros trabajos donde el consumo promedio de 675.77 ± 43.43 y 1042 ± 200.00 g MS de hojas frescas de *G. sepium* mostraron actividad AH contra poblaciones adultas y el establecimiento larvario de *Cooperia punctata*, respectivamente (González Torralba *et al.*, datos no publicados; von Son de Fernex, 2016). El bajo consumo de la leguminosa en comparación a los trabajos antes mencionados, puede asociarse a la calidad de las dietas ofrecidas. En éste trabajo de investigación los animales experimentales se manejaron bajo un esquema nutricional de pastoreo directo; mientras que en los otros, los animales experimentales fueron manejados en corraletas individuales con una dieta basal constituida por heno de *D. decumbens* y concentrado comercial. Se ha reportado que los rumiantes prefieren los forrajes succulentos sobre los secos y que el consumo voluntario dependerá de la velocidad de paso del alimento por el tracto gastrointestinal, mismo que se encuentra directamente relacionado con las propiedades fisicoquímicas de la dieta (Mejía Haro, 2002).

El segundo objetivo de éste trabajo de investigación fue determinar el efecto AH del consumo de *G. sepium* sobre la población total de parásitos adultos en el hospedero. En este trabajo de investigación no se encontraron diferencias entre las poblaciones totales de NGI ($p > 0.05$). Estudios previos reportaron que las poblaciones adultas de NGI en rumiantes no fueron afectadas tras la complementación de las dietas con hojas frescas, heno o pellets de leguminosas

de clima templado (Paolini *et al.*, 2003; Martínez Ortiz de Montellano *et al.*, 2010; Desrues *et al.*, 2016b). Por otro lado, Heckendorn *et al.*, (2006) reportaron que la complementación con heno de Sainfoin en ovinos infectados artificialmente con *H. contortus* y *C. curticei* redujo la excreción de huevos en heces y la población adulta de *H. contortus*; no obstante, dichos autores reportan que en la población adulta de *C. curticei* solamente se vió afectada la fecundidad per cápita de las hembras parásitas. Dicho reporte es similar a lo observado en este trabajo de investigación, donde no se observó una reducción en la población total de adultos en el TGI; pero sí una menor cantidad de parásitos adultos de *Haemonchus* spp., en abomaso (868 y 64 ejemplares adultos recuperados en control y tratamiento, respectivamente); sin mostrar efecto a nivel de intestino delgado con poblaciones adultas de *Cooperia* spp., de 1350 y 2276 ejemplares recuperados del control y tratamiento, respectivamente, sugiriendo que la actividad AH puede tener diferentes mecanismos entre los géneros de NGI (Heckendorn *et al.*, 2006).

Otras evaluaciones han reportado un efecto AH del consumo de *G. sepium* sobre infecciones artificiales de *Cooperia punctata* en bovinos, registrando una reducción en el establecimiento larvario del 76.9% (von Son de Fernex, 2016) y una reducción de parásitos adultos de 32.07% (González Torralba *et al.*, datos no publicados). Las diferencias reportadas del efecto AH del consumo de *G. sepium* sobre el control de NGI en bovinos puede deberse a la fase del ciclo parasitario en que éste fue evaluado, en los trabajos donde se inhibió el establecimiento larvario mediante el consumo de *G. sepium*, el tratamiento se dio desde el momento en que se infectaron los animales con L₃ de *C. punctata*, está documentado que el proceso de desenvaine larvario es altamente sensible a la

presencia de metabolitos secundarios de plantas (Hoste *et al.*, 2006); por otro lado, la reducción de parásitos adultos de *C. punctata* reportada por González Torralba *et al.*, (datos no publicados) se obtuvo mediante una infección artificial y dietas basales controladas. En este trabajo de investigación, los animales estuvieron bajo un sistema de pastoreo continuo, con tasas de re-infección de 2,127 L₃/Kg MS en los potreros; lo cual nos hace pensar que esta re-infección constante pudo influir en que la mayoría de los metabolitos secundarios estuvieran ejerciendo su actividad AH inhibiendo el establecimiento larvario y en menor proporción contra las poblaciones adultas ya establecidas. Aunque este trabajo no permite asegurar o rechazar dicha hipótesis, ni determinar la cantidad de MSP que llegaron a los distintos segmentos del TGI; diversos trabajos de investigación han determinado que el efecto AH de los metabolitos secundarios de las plantas (MSP) puede verse afectado por la cantidad o estructura de los mismos a lo largo del tracto digestivo (Athanasiadou *et al.*, 2007); así como por el tiempo de exposición, debido a que la actividad AH de los MSP se ha considerado de tipo tiempo-dependiente (Sandoval Castro *et al.*, 2012). Por lo tanto, es posible pensar que la naturaleza mixta de la infección parasitaria, la incrementada tasa de re-infección diaria en potreros y el tiempo de oferta de la leguminosa hayan afectado los resultados de este trabajo de investigación con respecto a la reducción de poblaciones adultas dentro del hospedero.

No obstante, es importante comentar que sí se observó una tendencia de reducción en la eliminación de hpgh, la cual podría estar asociada al efecto del tratamiento sobre el tamaño de las hembras parásitas. En este estudio, se observó que el consumo de *G. sepium* afectó el tamaño de las hembras de NGI ($p < 0.05$),

observando longitudes totales promedio de 12.24 ± 0.32 mm y 14.89 ± 0.67 mm en los ejemplares adultos de *Haemonchus* spp., del tratamiento y control, respectivamente; así como longitudes promedio de los ejemplares de *Cooperia* spp., de 6.0 ± 0.11 mm y 7.32 ± 0.16 mm para tratamiento y control, respectivamente. Las diferencias morfométricas obtenidas entre tratamientos son consistentes con los reportados por von Son de Fernex (2016), en donde el consumo de hojas frescas de *G. sepium* también afectó el tamaño de las hembras jóvenes de *Cooperia punctata* (5.3 ± 0.26 mm y 6.58 ± 0.29 mm para tratamiento y grupo control, respectivamente).

El efecto AH *in vivo* de leguminosas forrajeras sobre la reducción en la eliminación de huevos de NGI, se ha atribuido a dos factores: 1) la reducción en el número de helmintos en el TGI (Shaik *et al.*, 2004, 2006; Lange *et al.*, 2006; Cenci *et al.*, 2007, Brunet *et al.*, 2008) y/o 2) la reducción de la fertilidad de las hembras parásitas, que a su vez se asocia a una reducción en el crecimiento y la longitud de las mismas (Heckendorn *et al.*, 2006; Martínez Ortiz de Montellano *et al.*, 2010; Valderrábano *et al.*, 2010; Moreno Gonzalo *et al.*, 2013). Es probable que en este estudio hubo una tendencia en esta asociación; sin embargo, no se puede aseverar con certeza, debido a que la fertilidad per cápita en estos géneros parasitarios presenta un valor de cero en comparación a las hembras parásitas del grupo control. Los resultados obtenidos en éste trabajo de investigación sugieren que, como se ha reportado en estudios previos, el efecto AH de *G. sepium* es de tipo dosis-dependiente, (von Son de Fernex *et al.*, 2014b, 2016). No obstante, se considera necesario realizar más estudios con infecciones naturales en bovinos para validar su uso curativo contra NGI en campo.

IX. CONCLUSIÓN

El consumo de *Gliricida sepium* por bovinos infectados naturalmente no mostró una reducción significativa en la eliminación de huevos por gramo de heces ($\geq 90\%$). Así mismo, no se observaron diferencias estadísticamente significativas sobre la población total de parásitos adultos en el tracto gastrointestinal. No obstante, el consumo si afectó el desarrollo parasitario, observando diferencias estadísticamente significativas entre las características morfométricas de las hembras parásitas recuperadas del TGI (12.24 ± 0.32 mm en el grupo tratado contra 14.89 ± 0.67 mm del grupo control en *Haemonchus* spp y 6.0 ± 0.11 mm contra 7.32 ± 0.16 mm en *Cooperia* spp, para el tratamiento y control, respectivamente). La falta de actividad antihelmíntica puede ser directamente relacionada con un consumo voluntario bajo de la leguminosa por parte de los animales experimentales. Se sugiere realizar más estudios que evalúen el potencial AH de *Gliricidia sepium* en infecciones naturales en bovinos para validar su uso en campo como método de control alternativo de NGI.

X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Adejumo JO, Ademosun AA. 1985. Effect of plants age at harvest and cutting time frequency and height on the dry matter yield and nutritive value of *Gliricidia sepium* and *Cajanus cajan*. *Journal of Animal Production Research*, 5, 1–12.
2. Ademola IO, Fagbemi BO, Idowu SO. 2004. Evaluation of the anthelmintic activity of *Khaya senegalensis* extract against gastrointestinal nematodes of sheep: *in vitro* and *in vivo* studies. *Veterinary Parasitology*, 122 (2), 151-164.
3. Akharaiyi FC, Boboye B, Adetuyi FC. 2012. Antibacterial, phytochemical and antioxidant activities of the leaf extracts of *Gliricidia sepium* and *Spathodea campanulata*. *World Applied Sciences Journal*, 16 (4), 523-530.
4. Alonso-Díaz MA, Torres-Acosta JFJ, Sandoval-Castro CA, Capetillo-Leal C, Brunet S, Hoste H. 2008a. 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), 187-192.
5. Alonso-Díaz MA, Torres-Acosta JFJ, Sandoval-Castro CA, Aguilar-Caballero AJ, Hoste H. 2008b. *In vitro* larval migration and kinetics of exsheathment of *Haemonchus contortus* larvae exposed to four tropical tanniniferous plant extracts. *Veterinary Parasitology*, 153 (3), 313-319.
6. Alonso-Díaz MA, Torres-Acosta JFJ, Sandoval-Castro CA, Hoste H. 2010. Tannins in tropical tree fodders fed to small ruminants: A friendly foe?. *Small Ruminant Research*, 89 (2), 164–173.
7. Andlauer W, Fürst P. 2002. Nutraceuticals: a piece of history, present status and outlook. *Food Research International*, 35 (2), 171–176.
8. AOAC, 1980. *Official Methods of Analysis*. 13th ed. AOAC, Washington, DC, USA.
9. Araque C, Quijada T, Aubeterre RD, Páez L, Sánchez A, Espinoza F. 2006. Bromatología del mataratón (*Gliricidia sepium*) a diferentes edades de corte en Urachiche, estado Yaracuy, Venezuela. *Zootecnia Tropical*, 24 (4), 393-399.
10. Armour J, Duncan M. 1987. Arrested Larval Development in Cattle Nematodes. *Parasitology Today*, 3 (6), 171-176.
11. Arnaud-Ochoa R, Alonso-Díaz, MA. 2012. Unidades de producción bovina con nematodos gastrointestinales resistentes al albendazol (Benzimidazoles) en México. *Revista Científica*, 22, 315 – 320.
12. Athanasiadou S, Githiori J, Kyriazakis I. 2007. Medicinal plants for helminth parasite control: facts and fiction. *Animal*, 1 (9), 1392–1400.
13. Ávalos García A, Pérez-Urria Carril E. 2009. Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología)*, 2 (3), 119-145.
14. Barrett GC. 1985. *Chemistry and Biochemistry of the Amino Acids*. New York, NY, USA: Chapman and Hall.
15. Barry TN, Manley TR. 1984. The role of condensed tannins in the nutrimental value of *Lotus pendunculatus* for sheep. 2. Quantitative digestion of carbohydrate and proteins. *British Journal of Nutrition*, 51(03), 493-504.

16. Becerra-Nava R, Alonso-Díaz MA, Fernández-Salas A Quiroz RH. 2014. First report of cattle farms with gastrointestinal nematodes resistant to levamisole in Mexico. *Veterinary Parasitology*, 204 (3), 285–290.
17. Bell AE. 2003. Nonprotein Amino Acids of Plants: Significance in Medicine, Nutrition, and Agriculture. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51 (10), 2854-2865.
18. Benavides JE. 1999. Árboles y arbustos forrajeros: Una alternativa agroforestal para la ganadería. *Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) animal production and health paper*, 449-477. <http://www.fao.org/AG/AGa/agap/FRG/AGROFOR1/bnvdes23.htm> [Consulta 10 dic 2016].
19. Besné-Mérida A, Figueroa-Castillo JA, Quiroz-Romero H, Ramírez-Guadarrama A, Ramos-Martínez E. 2007. *Manual de prácticas de laboratorio de parasitología*. Segunda reimpresión. México D.F., México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM.
20. Bisset SA. 1994. Helminth parasites of economic importance in cattle in New Zealand. *New Zealand Journal of Zoology*, 21 (1), 9–22.
21. Bowman DD. 2014. *Georgis' parasitology for veterinarians*. 10th Edition. St. Louis, Missouri, USA: Elsevier Saunders.
22. Brunet S, Aufrere J, El Babili, F., Fouraste, I., Hoste, H. 2007. The kinetics of exsheathment of infective nematode larvae is disturbed in presence of tannin rich plant (sainfoin) both *in vitro* and *in vivo*. *Parasitology*, 134 (09), 1253–1262.
23. Brunet S, Martínez-Ortiz-de-Montellano C, Torres-Acosta JFJ, Sandoval-Castro CA, Aguilar-Caballero AJ, Capetillo-Leal C, Hoste, H. 2008. Effect of the consumption of *Lysiloma latisiliquum* on the larval establishment of gastrointestinal nematodes in goats. *Veterinary Parasitology*, 157 (1), 81–88.
24. Camurça-Vasconcelos ALF, Bevilaqua CML, Morais SM, Maciel MV, Costa CTC, Macedo ITF, Oliveira LMB, Braga RR, Silva RA, Vieira LS. 2007. Anthelmintic activity of *Croton zehntneri* and *Lippia sidoides* essential oils. *Veterinary Parasitology*, 148 (3), 288–294.
25. Canul-Ku HL, Rodríguez-Vivas RI, Torres-Acosta JFJ, Aguilar-Caballero AJ, Pérez-Cogollo LC, Ojeda-Chi MM. 2012. Prevalence of cattle herds with ivermectin resistant nematodes in the hot sub-humid tropics of Mexico. *Veterinary Parasitology*, 183 (3), 292– 298.
26. Cavalli LL. 1952. Genetic analysis of drug-resistance. *Bulletin of the World Health Organization*, 6 (1-2), 185.
27. Cenci FB, Louvandini H, McManus CM, Dell'Porto A, Costa DM, Araújo SC, Minho AP, Abdalla AL. 2007. Effects of condensed tannin from *Acacia mearnsii* on sheep infected naturally with gastrointestinal helminthes. *Veterinary Parasitology*, 144 (1), 132–137.
28. Charlier J, Höglund J, von Samson-Himmelstjerna G, Dorny P, Vercruysse J. 2009. Gastrointestinal nematode infections in adult dairy cattle: Impact on production, diagnosis and control. *Veterinary Parasitology*, 164 (1), 70–79.
29. Charlier J, van der Voort M, Kenyon F, Skuce P, Vercruysse J. 2014. Chasing helminths and their economic impact on farmed ruminants. *Trends in Parasitology*, 30 (7), 361–367.

30. Charlier J, Vande-Velde F, van der Voort M, Meensel J, Lauwers L, Cauberghe, V, Vercruyssen J, Claerebout E. 2015. ECONOHEALTH: Placing helminth infections of livestock in an economic and social context. *Veterinary Parasitology*, 212 (1), 62–67.
31. Coates DB. 1995. Tropical legumes for large ruminants. En: D`Mello JPF y Devedra C. (eds). *Tropical legumes in animal nutrition*. Wallingford, UK: CAB International, 191-230.
32. Coles GC, Bauer C, Borgsteede FH, Geerts S, Klei TR, Taylor MA, Waller PJ. 1992. World Association for Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) Methods for detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology*, 44 (1-2), 35–43.
33. Coles, G.C. 2002. Cattle nematodes resistant to anthelmintics: why so few cases?. *Veterinary Research*, 33 (5), 481-489.
34. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). *Gliricidia sepium*. [PDF, consulta 12 dic 2016]. http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/info_especies/arboles/doctos/29-legum19m.pdf
35. Comité Institucional para Cuidado y Uso de los Animales de Experimentación (CICUAE). Manual De Organización Y Procedimientos. [Word: FMVZ-UNAM, 26 dic 2015]. México, D.F., México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México. <http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/principal/archivos/manual.doc>
36. Cordero-del-Campillo M, Rojo-Vázquez, FA. 2001. *Parasitología Veterinaria*. 1ª Reimpresión. Madrid, España: McGraw-Hill – Interamericana.
37. Corticelli B, Lai M. 1963. Ricerche sulla tecnica di coltura delle larve infestive degli strongili gastro-intestinali del bovino. *Acta Medica Veterinaria*, 9, V/VI.
38. Corwin RM. 1997. Economics of gastrointestinal parasitism of cattle. *Veterinary Parasitology*, 72 (3), 451 – 460.
39. Croteau R, Kutchan TM, Lewis NG. 2000. Natural Products (Secondary Metabolites). En: Buchanan BB, Grissem W, Jones RL. (eds). *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*. Rockville, Maryland, USA: American Society of Plant Physiologists.
40. Dávalos-Flores JL. 2015. La lechería en México: pasado, presente y futuro. *Memorias del XXXIX Congreso Nacional e Internacional de Buiatría 2015 “Lic. Luis Bravo Tornel”*; Julio 30 – 31 y Agosto 1. Puebla, Puebla, México: Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos.
41. Desrues O, Fryganas C, Ropiak HM, Mueller-Harvey I, Heidi L, Enemark HL, Thamsborg SM. 2016a. Impact of chemical structure of flavanol monomers and condensed tannins on *in vitro* anthelmintic activity against bovine nematodes. *Parasitology*, 143 (04), 444–454.
42. Desrues O, Peña-Espinoza M, Hansen TVA, Heidi L, Enemark HL, Thamsborg SM. 2016b. Anti-parasitic activity of pelleted sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) against *Ostertagia ostertagi* and *Cooperia oncophora* in calves. *Parasites and Vectors*, 9 (1), 329.
43. Domínguez-Alpízar JL, Rodríguez-Vivas RI, Honhold N. 1993. Epizootiología de los parásitos gastrointestinales en bovinos del estado de Yucatán. *Veterinaria México*, 24 (3), 189–193.

44. Encalada-Mena LA, López-Arellano MA, Mendoza-de-Gives P, Liébano-Hernández E, Vázquez-Prats V, Vera-Ycuspinera G. 2008. Primer informe en México sobre la presencia de resistencia a ivermectina en bovinos infectados naturalmente con nematodos gastrointestinales. *Veterinaria México*, 39 (4), 423-428.
45. Encalada-Mena LA, Corbala-Bermejo JA, Vargas-Magaña JJ, García-Ramírez MJ, Uicab-Brito L, del Río-Rodríguez J. 2009. Prevalencia de nematodos gastroentéricos de becerros en sistemas de doble propósito del municipio de Escárcega, Campeche, México. *Agrociencia*, 43 (6), 569 – 576.
46. Fabiyi JP. 1987. Production losses and control of helminths in ruminants of tropical regions. *International Journal for Parasitology*, 17 (2), 435 – 442.
47. Faría-Mármol, J. 2006. Manejo de pastos y forrajes en ganadería de doble propósito. En: *Memorias de X Seminario Manejo y Utilización de Pastos y Forrajes en Sistemas de Producción Animal*, LUZ-FCV, Maracaibo, Venezuela.
48. Fernández AS, Fiel CA, Steffan PE. 1999. Study on the inductive factors of hypobiosis of *Ostertagia ostertagi* in cattle. *Veterinary Parasitology*, 81 (4), 295-307.
49. Financiera Nacional de Desarrollo Agropecuario, Rural, Forestal y Pesquero (FDN). 2014. Panorama de la Carne y Leche de Bovino. [PDF, consulta 14 jun 2016].
<http://www.financierarural.gob.mx/informacionsectorrural/Panoramas/Ficha%20Bovino.pdf>
50. Forbes AB, Huckle CA, Gibb MJ, Rook AJ, Nuthall R. 2000. Evaluation of the effects of nematode parasitism on grazing behaviour, herbage intake and growth in young grazing cattle. *Veterinary Parasitology*, 90 (1), 111–118.
51. Francisco G, Hernández I. 1998. *Gliricidia sepium* (Jacq.) Kunth. y Walp., árbol multipropósito para una ganadería sostenible. *Pastos y Forrajes*, 21 (3).
<http://payfo.ihatuey.cu/index.php/pasto/article/view/1050> [consulta 20 ene 2017].
52. Fundación Produce Veracruz., Colegio de Postgraduados. 2003. Necesidades de Investigación y Transferencia de Tecnología de la Cadena de Bovinos de Doble Propósito en el estado de Veracruz. [PDF, consulta 10 ago 2016].
<http://www.cofupro.org.mx/cofupro/Publicacion/Archivos/penit110.pdf>
53. García, E. 2004. *Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen*. Cuarta Edición. México D.F., México: Instituto de Geografía, UNAM.
54. García-Winder M. La ganadería en México: Su contribución a la seguridad alimentaria. En: *Reunión de la Academia Mexicana de Ciencias: "Ciencia y Humanismo"*. (México D.F., México, Programa de Agronegocios y Comercialización Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura Miami, FL, USA).
55. Gasbarre LC. 2014. Anthelmintic resistance in cattle nematodes in the US. *Veterinary Parasitology*, 204 (1), 3–11.
56. Geurden T, Chartier C, Fanke J, Frangipane-di-Regalbano A, Traversa D, von Samson-Himmelstjerna G, Demeler J, Bindu-Vanimisetti H, Bartram DJ, Denwood MJ. 2015. Anthelmintic resistance to ivermectin and moxidectin in gastrointestinal nematodes of cattle in Europe. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, 5 (3), 163-171.

57. Gibbs HC. 1986. Hypobiosis in Parasitic Nematodes-An Update. *Advances in Parasitology*, 25, 129-174.
58. Githiori JB, Athanasiadou S, Thamsborg SM. 2006. Use of plants in novel approaches for control of gastrointestinal helminths in livestock with emphasis on small ruminants. *Veterinary Parasitology*, 139 (4), 308–320.
59. Gómez ME, Molina CH, Molina EJ, Murgueitio E. 1990. Producción de biomasa en seis ecotipos de matarratón (*Gliricidia sepium*). *Livestock Research for Rural Development*, 2 (2), 1-8.
60. Grisi L, Romário-Cerqueira L, de Souza-Martins JR, Medeiros-de Barros AT, Andreotti R, Duarte-Cançado PH, Pérez-de León AA, Barros-Pereira J, Silva-Villela H. 2014. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology*, 23 (2), 150-156.
61. Gross SJ, Ryan WG, Ploeger HW. 1999. Anthelmintic treatment of dairy cows and its effect on milk production. *Veterinary Record*, 144 (21), 581–587.
62. Hawkins JA. 1993. Economic benefits of parasite control in cattle. *Veterinary Parasitology*, 46 (1-4), 159–173.
63. Haydock KP, Shaw NH. 1975. The comparative yield method for estimating dry matter yield of pasture. *Animal Production Science*, 15 (76), 663-670.
64. Heckendorn F, Häring DA, Maurer V, Zinsstag J, Langhans W, Hertzberg H. 2006. Effect of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) silage and hay on established populations of *Haemonchus contortus* and *Cooperia curticei* in lambs. *Veterinary Parasitology*, 142 (3), 293–300.
65. Hernández-Villegas MM, Borges-Argáez R, Rodríguez-Vivas RI, Torres-Acosta JFJ, Méndez-Gonzalez M, Cáceres-Farfana M. 2011. Ovicidal and larvicidal activity of the crude extracts from *Phytolacca icosandra* against *Haemonchus contortus*. *Veterinary Parasitology*, 179 (1), 100–106.
66. Heuzé V., Tran G., 2015. *Gliricidia (Gliricidia sepium)*. Feedipedia, a programme by INRA, CIRAD, AFZ and FAO. [en línea, actualización 11 mayo 2015] <http://www.feedipedia.org/node/552> [Consulta 21 ene 2017].
67. Höglund J. 2010. Parasite surveillance and novel use of anthelmintics in cattle. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 52 (1), S2-S5.
68. Hoste H, Jackson F, Athanasiadou S, Thamsborg SM, Hoskin SO. 2006. The effects of tannin-rich plants on parasitic nematodes in ruminants. *Trends in Parasitology*, 22 (6), 253-261.
69. Hoste H, Torres-Acosta JFJ. 2011. Non chemical control of helminths in ruminants: Adapting solutions for changing worms in a changing world. *Veterinary Parasitology*, 180 (1), 144-154.
70. Hoste H, Manolaraki F, Brunet S, Arroyo-López C, Martínez-Ortiz-de-Montellano C, Sotiraki S, Torres-Acosta F. 2011. The anthelmintic properties of tannin-rich legume forages: from knowledge to exploitation in farm conditions. En: Ranilla MJ, Carro MD, Ben-Salem H, Moran-d-Fehr P. (eds.). *Challenging strategies to promote the sheep and goat sector in the current global context*. Zaragoza: CIHEAM/ CSIC/ Universidad de León/ FAO. 295-304 (Options Méditerranéennes: Série A. Séminaires Méditerranéens; n. 99).
71. Hoste H, Martínez-Ortiz-De-Montellano C, Manolaraki F, Brunet S, Ojeda-Robertos N, Fourquaux I, Torres-Acosta JFJ, Sandoval-Castro CA. 2012.

- Direct and indirect effects of bioactive tannin-rich tropical and temperate legumes against nematode infections. *Veterinary Parasitology*, 186 (1), 18-27.
72. Hoste H, Torres-Acosta JFJ, Sandoval-Castro CA, Mueller-Harvey I, Sotiraki S, Louvandini H, Thamsborg SM, Terrill TH. 2015. Tannin containing legumes as a model for nutraceuticals against digestive parasites in livestock. *Veterinary Parasitology*, 212 (1), 5–17.
73. Huang T, Jander G, de-Vos M. 2011. Non-protein amino acids in plant defense against insect herbivores: Representative cases and opportunities for further functional analysis. *Phytochemistry*, 72 (13), 1531–1537.
74. Jackson F, Miller J. 2006. Alternative approaches to control—Quo vadit?. *Veterinary Parasitology*, 139 (4), 371–384.
75. Jiménez-Ferrer G, López-Carmona M, Nahed-Toral J, Ochoa-Gaona S, de-Jong B. 2008. Fodder trees and shrubs of the north-tzotzil region of Chiapas Mexico. *Veterinaria México*, 39 (2), 199–213.
76. Kabore A, Traore A, Nignan M, Gnanda BI, Bamogo V, Tamboura HH, Bele MAMG. 2012. *In vitro* anthelmintic activity of *Leuceana leucocephala* (Lam.) De Wit. (Mimosaceae) and *Gliricidia sepium* (Jacq.) Kunth ex Steud (Fabaceae) leave extracts on *Haemonchus contortus* ova and larvae. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 4 (1), 303-309.
77. Kunkle BN, Williams JC, Johnson EG, Stromberg BE, Yazwinski TA, Smith LL, Yoon S, Cramer, LG. 2013. Persistent efficacy and production benefits following use of extended-release injectable eprinomectin in grazing beef cattle under field conditions. *Veterinary Parasitology*, 192 (4), 332 – 337.
78. Lange KC, Olcott DD, Miller JE, Mosjidis JA, Terrill TH, Burke JM, Kearney MT. 2006. Effect of sericea lespedeza (*Lepedeza cuneata*) fed as hay, on natural and experimental *Haemonchus contortus* infections in lambs. *Veterinary Parasitology*, 141 (3), 273–278.
79. Lim, TK. 2014. *Gliricidia sepium*: [Gráfico]. Recuperado de Lim, TK. 2014. *Edible Medicinal And Non-Medicinal Plants (Volume 7, Flowers)*. New York, NY, USA: Springer Science + Business Media Dordrecht.
80. Magaña-Monforte JG, Ríos-Arjona G, Martínez-González JC. 2006. Los sistemas de doble propósito y los desafíos en los climas tropicales de México. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*, 14, 105 – 144.
81. 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), 99–105.
82. Marie-Magdeleine C, Udino L, Philibert L, Bocage B, Archimede H. 2010. *In vitro* effects of Cassava (*Manihot esculenta*) leaf extracts on four development stages of *Haemonchus contortus*. *Veterinary Parasitology*, 173 (1), 85–92.
83. Marley CL, Cook R, Keatinge R, Barrett J, Lampkin JL. 2003. The effect of birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus*) and chicory (*Cichorium intybus*) on parasite intensities and performance of lambs naturally infected with helminth parasites. *Veterinary Parasitology*, 112 (1), 147–155.
84. Martínez-Ortiz-De-Montellano C, Vargas-Magaña JJ, Canul-Ku L, Miranda-Soberanis R, Capetillo-Leal C, Sandoval-Castro CA, Hoste H, Torres-Acosta, JFJ. 2010. Effect of a tropical tannin-rich plant, *Lysiloma latisiliquum* on adult

- populations of *Haemonchus contortus* in sheep. *Veterinary Parasitology*, 172 (3), 283–290.
85. Mejía Haro J. 2002. Consumo Voluntario de Forraje por Rumiantes en Pastoreo. *Acta Universitaria*, 12 (3), 56-63.
 86. Mertz KJ, Hildreth MB, Epperson WB. 2005. Assessment of the effect of gastrointestinal nematode infestation on weight gain in grazing beef cattle. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 226 (5), 779 – 783.
 87. Molan AL, Duncan AJ, Barry TN, McNabb WC. 2003. Effects of condensed tannins and crude sesquiterpene lactones extracted from chicory on the motility of larvae of deer lungworm and gastrointestinal nematodes. *Parasitology International*, 52 (3), 209–218.
 88. Moreno-Gonzalo J, Osoro K, García U, Frutos P, Celaya R, Ferreira LMM, Ortega-Mora LM, Ferre I. 2013. Effect of the consumption of heather on incoming larvae and established population of *Teladorsagia circumcincta* in experimentally infected Cashmere goats. *Veterinary Parasitology*, 196 (1), 124–129.
 89. Muñoz-Lagunes A, González-Garduño R, López-Arellano MA, Ramírez-Valverde R, Ruíz-Flores A, García-Muñoz G, Ramírez-Vargas G, Mendoza-de-Gives P, Torres-Hernández G. 2015. Anthelmintic resistance in gastrointestinal nematodes from grazing beef cattle in Campeche State, Mexico. *Tropical Animal Health and Production*, 47 (6), 1049–1054.
 90. Nguyen TM, Binh DV, Ørskov ER. 2005. Effect of foliages containing condensed tannins and on gastrointestinal parasites. *Animal Feed Science and Technology*, 121 (1), 77–87.
 91. Niec R. 1968. Cultivo e identificación de larvas infectantes de nematodos gastroentéricos del bovino y ovino. En: *Manual Técnico volumen 3*. Buenos Aires, Argentina: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria.
 92. Niezen JH, Charleston WAG, Hodgson J, Miller M, Waghorn TS, Robertson HA. 1998. Effect of plant species on the larvae of gastrointestinal nematodes which parasitise sheep. *International Journal for Parasitology*, 17 (5), 680-792.
 93. Niezen JH, Waghorn GC, Graham T, Carter JL, Leathwick D.M. 2002. The effect of diet fed to lambs on subsequent development of *Trichostrongylus colubriformis* larvae in vitro and on pasture. *Veterinary Parasitology*, 105 (4), 269–283.
 94. Novobilský A, Mueller-Harvey I, Thamsborg, S.M. 2011. Condensed tannins act against cattle nematodes. *Veterinary Parasitology*, 182 (2), 213-220.
 95. Novobilský A, Stringano E, Hayot Carbonero C, Smith LMJ, Enemark HL, Mueller-Harvey I, Thamsborg SM. 2013. *In vitro* effects of extracts and purified tannins of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) against two cattle nematodes. *Veterinary Parasitology*, 196 (3), 532–537.
 96. Olivares-Pérez J, Gutiérrez-Segura I, Valencia-Almazán MT. 2006. Prevalencia de nematodos gastroentericos en terneros predestete del trópico de Guerrero, México, durante la época lluviosa. *REDVET: Revista Electrónica de Veterinaria*, 7 (11), 1-5.
 97. Oliveira LMB, Leal-Bevilaqua CM, Freitas-Macedo IT, Morais SM, Barros-Monteiro MV, Cabral-Campello C., Correia-Ribeiro WL, Frota-Batista EK. 2011. Effect of six tropical tanniferous plant extracts on larval exsheathment of

- Haemonchus contortus*. *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology*, 20 (2), 155-160.
98. Orwa C, Mutua A, Kindt R, Jamnadass R, Anthony S. 2009. Agroforestry Database: a tree reference and selection guide version 4.0. [en línea, base de datos, actualización: 28 dic 2015]. World Agroforestry Centre, Kenya. [<http://www.worldagroforestry.org/resources/databases/agroforestry>]
 99. Paolini V, Bergeaud JP, Grisez C, Prevot F, Dorchies P, Hoste, H. 2003. Effects of condensed tannins on goats experimentally infected with *Haemonchus contortus*. *Veterinary Parasitology*, 113 (3), 253-261.
 100. Parrotta JA. 2000. *Gliricidia sepium* (Jacq.) Walp. Gliricidia, madre de cacao. En: Francis JK, Lowe CA, Trabaino S (eds.). *Bioecología de Árboles Nativos y Exóticos de Puerto Rico y las Indias Occidentales*. Río Piedras, Puerto Rico: Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, Servicio Forestal, Instituto Internacional de Dasonomía Tropical.
 101. Pérez-Pérez C, Hernández-Villegas MM, de-la-Cruz-Burelo, P, Hernández-Bolio GI, Bolio-López GI. 2014. Efecto antihelmíntico *in vitro* del extracto metanólico de hojas de *Gliricidia sepium* contra nematodos gastrointestinales de ovinos. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 17 (1), 105–111.
 102. Pinto-Ruiz R, Gómez, H., Martínez, B., Hernández, A., Medina, F.J., Gutiérrez, R., Escobar, E., Vázquez, J. 2005. Árboles y arbustos forrajeros del sur de México. *Pastos y Forrajes*, 28, 87-97.
 103. Puerto-Abreu M, Arece-García J, López-Leyva Y, Roche Y, Molina M, Sanavria A, da-Fonseca A.H. 2014. Efecto *in vitro* de extractos acuosos de *Moringa oleifera* y *Gliricida sepium* en el desarrollo de las fases exógenas de strongílidos gastrointestinales de ovinos. *Revista de Salud Animal*, 36 (1), 28-34.
 104. Quiroz-Romero H. 2009. *Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos*. México D.F., México: Limusa.
 105. Quiroz-Romero H. 2011. Epidemiología y control de nematodos gastrointestinales en bovino con énfasis en México. En: Quiroz-Romero H, Figueroa-Castillo JA, Ibarra-Velarde F, López-Arellano MA (eds.). *Epidemiología de enfermedades parasitarias en animales domésticos*. Primera edición. México D.F., México: Departamento de Parasitología, FMVZ-UNAM.
 106. Ríos-de-Álvarez L, Jackson F, Greer A, Bartley Y, Bartley DJ, Grant G, Huntley JF. 2012. *In vitro* screening of plant lectins and tropical plant extracts for anthelmintic properties. *Veterinary Parasitology*, 186 (3), 390–398.
 107. Rodríguez-Vivas RI, Grisi L, Pérez-de-León AA, Silva-Villela, H, Torres-Acosta JFJ, Fragoso-Sánchez H, Romero-Salas D, Rosario-Cruz R, Saldierna F, García-Carrasco D. 2017. Evaluación del impacto económico potencial de los parásitos del ganado bovino en México. Revisión. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 8 (1), 61-74.
 108. Rogers WP. 1960. The Physiology of Infective Processes of Nematode Parasite; the Stimulus from the Animal Host. *Proceedings of the Royal Society of London*, Series B, Biological sciences, 152 (948), 367-386.
 109. Rojo-Rubio R, Vázquez-Armijo JF, Pérez-Hernández P, Mendoza-Martínez GD, Salem AZM, Albarrán-Portillo B, González-Reyna A, Hernández-Martínez J, Rebollar-Rebollar S, Cardoso-Jiménez D., Dorantes-Coronado EJ, Gutierrez-

- Cedillo JG. 2009. Dual purpose cattle production in Mexico. *Tropical Animal Health and Production*, 41 (5), 715–721.
110. Sánchez J, Dohoo I, Carrier J, DesCoteaux L. 2004. A meta-analysis of the milk-production response after anthelmintic treatment in naturally infected adult dairy cows. *Preventive Veterinary Medicine*, 63 (3), 237–256.
 111. Sandoval-Castro CA, Torres-Acosta JFJ, Hoste H, Salem AZM, Chan-Pérez JI. 2012. Using plant bioactive materials to control gastrointestinal tract helminths in livestock. *Animal Feed Science and Technology*, 176 (1), 192–201.
 112. Satou T, Koga M, Matsushashi R, Koike K, Tada I, Nikaido T. 2002. Assay of nematocidal activity of isoquinoline alkaloids using third-stage larvae of *Strongyloides ratti* and *S. venezuelensis*. *Veterinary Parasitology*, 104 (2), 131–138.
 113. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural (SAGARPA). 1997. Norma Oficial Mexicana NOM-033-ZOO-1995, Sacrificio humanitario de los animales domésticos y silvestres.
 114. Schmidt BM, Ribnicky DM, Lipsky PE, Raskin I. 2007. Revisiting the ancient concept of botanical therapeutics. *Nature chemical biology*, 3 (7), 360-366.
 115. Seigler DS. 1998. Non protein amino acids. En: Seigler DS. *Plant secondary metabolism*. New York, NY, USA: Springer Science + Business Media.
 116. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). 2014. Avance por producto (Leche de bovino y carne en canal de bovino). http://infosiap.siap.gob.mx/repoAvance_siap_gb/pecAvanceProd.jsp [Consulta 29 may 2016].
 117. Seth DG, Ghamba IN. 2015. Beneficial effect of condensed tannin in the control of gastrointestinal nematodes in ruminants (A review). *Strategic Management Journal*, 1 (1), 31-38.
 118. Shaik SA, Terrill TH, Miller JE, Kouakou B, Kannan G, Kallu RK, Mosjidis JA. 2004. Effects of feeding *Sericea lespedeza* hay to goats infected with *Haemonchus contortus*. *South African Journal of Animal Science*, 34 (Supplement 1), 248-250.
 119. Shaik SA, Terrill TH, Miller JE, Kouakou B, Kannan G, Kaplan RM, Burke JM, Mosjidis J.A. 2006. *Sericea lespedeza* hay as a natural deworming agent against gastrointestinal nematode infection in goats. *Veterinary Parasitology*, 139 (1), 150–157.
 120. Shaw DJ, Vercruyssen J, Claerebout E, Dorny P. 1998. Gastrointestinal nematode infections of first grazing season calves in western Europe: general patterns and the effect of chemoprophylaxis. *Veterinary Parasitology*, 75 (2), 115–131.
 121. Shelton M. 2000. Leguminosas forrajeras tropicales en los sistemas agroforestales. *Unasylva*, 51 (200), 25-32.
 122. Silva BF, Amarante MRV, Kadri SM, Carrijo-Mauad JR, Amarante AFT. 2008. Vertical migration of *Haemonchus contortus* third stage larvae on *Brachiaria decumbens* grass. *Veterinary Parasitology*, 158 (1), 85–92.
 123. Sinha SN. 2013. Phytochemical profiles and antioxidant activities of the leaf extracts of *Gliricidia sepium*. *International Journal of Innovations in Bio-Sciences*, 3 (3), 87-91.

124. Soulsby E JL. 1987. *Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos*. 7a edición. Distrito Federal, México: Interamericana.
125. Statpoint Technologies, Inc. 2010. STATGRAPHICS Centurion XVI version 16.1.18. USA.
126. Stromberg BE, Gasbarre LC, Waite A, Bechtol DT, Brown MS, Robinson, NA, Olson EJ, Newcomb H. 2012. *Cooperia punctata*: Effect on cattle productivity?. *Veterinary Parasitology*, 183 (3), 284– 291.
127. Sutherland IA, Scott I. 2009. Anthelmintics. En: Sutherland IA, Scott I. *Gastrointestinal Nematodes of Sheep and Cattle: Biology and Control*. Oxford, UK: Wiley- Blackwell.
128. Sutherland IA, Leathwick DM. 2011. Anthelmintic resistance in nematode parasites of cattle: a global issue?. *Trends in Parasitology*, 27 (4), 176-181.
129. Taylor EL, 1939. Technique for the estimation of pasture infestation by strongyloid larvae. *Parasitology*, 31 (04), 473-478.
130. Topps JH. 1992. Potential, composition and use of legume shrubs and trees as fodders for livestock in the tropics. *Journal of Agricultural Science*, 118 (01), 1-8.
131. Torres-Acosta JFJ, Hoste H. 2008. Alternative or improved methods to limit gastrointestinal parasitism in grazing sheep and goats. *Small Ruminant Research*, 77 (2), 159–173.
132. Torres-Acosta JFJ, Vargas-Magaña JJ, Chan-Pérez JI, Aguilar-Caballero A, Alonso-Díaz MA, de-la-Rosa-Aranda JL, Ojeda-Robertos NF. 2015. Recuperación de helmintos a la necropsia. En: Rodríguez-Vivas RI (ed.). *Técnicas para el diagnóstico de parásitos con importancia en salud pública y veterinaria*. Mérida, Yucatán, México: Asociación Mexicana de Parasitólogos Veterinarios, A.C.
133. Valderrábano J, Calvete C, Uriarte J. 2010. Effect of feeding bioactive forages on infection and subsequent development of *Haemonchus contortus* in lamb faeces. *Veterinary Parasitology*, 172 (1), 89-94.
134. Vanderstichel R, Dohoo I, Sanchez J, Sithole F, Keefe G, Stryhn H. 2013. Predicting the effect of anthelmintic treatment on milk production of dairy cattle in Canadá using an *Ostertagia ostertagi* ELISA from individual milk samples. *Preventive Veterinary Medicine*, 111 (1), 63–75.
135. Vargas-Magaña JJ, Torres-Acosta JFJ, Aguilar-Caballero AJ, Sandoval-Castro CA, Hoste H, Chan-Pérez JI. 2014. Anthelmintic activity of acetone–water extracts against *Haemonchus contortus* eggs: Interactions between tannins and other plant secondary compounds. *Veterinary Parasitology*, 206 (3), 322–327.
136. Vázquez-Prats VM, Flores-Crespo J, Santiago-Valencia C, Herrera-Rodríguez D, Palacios-Franquez A, Liébano-Hernández E, Pelcastre-Ortega A. 2004. Frecuencia de nemátodos gastroentéricos en bovinos de tres áreas de clima subtropical húmedo de México. *Técnica Pecuaria en México*, 42 (2), 237-245.
137. von-Son-de-Fernex E. 2016. *Evaluación in vitro e in vivo de plantas bioactivas sobre el control de Cooperia punctata en bovinos* [Disertación]. Ciudad de México, México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM

138. von-Son-de-Fernex E, Alonso-Díaz MA, Valles-de-la-Mora B, Capetillo-Leal CM. 2012. *In vitro* anthelmintic activity of five tropical legumes on the exsheathment and motility of *Haemonchus contortus* infective larvae. *Experimental Parasitology*, 131 (4), 413–418.
139. von-Son-de-Fernex E, Alonso-Díaz MA, Mendoza-de-Gives P, Valles-de-la-Mora B, Liébano-Hernández E, López-Arellano MA, Aguilar-Marcelino L. 2014a. Reappearance of *Mecistocirrus digitatus* in Cattle from the Mexican Tropics: Prevalence, Molecular, and Scanning Electron Microscopy Identification. *Journal of Parasitology*, 100 (3), 296-301.
140. von-Son-de-Fernex E, Alonso-Díaz MA, Mendoza-de-Gives P, Valles-de-la-Mora B, González-Cortazar M, Zamilpa A. 2014b. Bioactivity of five tropical plants against *Cooperia spp* exsheathment process. Conference paper. *13th International Congress on Parasitology (ICOPA)*; 10-15 August. Mexico City, Mexico. <http://www.researchgate.net/publication/264975175> [Consulta 23 dic 2015].
141. von-Son-de-Fernex E, Alonso-Díaz MA, Mendoza-de-Gives P, Valles-de-la-Mora B, Zamilpa A, González-Cortazar M. 2016. Ovicidal activity of extracts from four plant species against the cattle nematode *Cooperia punctata*. *Veterinaria México*, 3 (2).
142. Wabo-Poné J, Kenne-Tameli F, Mpoame M, Pamo TE, Bilong-Bilong CF. 2011. *In vitro* activities of acetonic extracts from leaves of three forage legumes (*Calliandra calothyrsus*, *Gliricidia sepium* and *Leucaena diversifolia*) on *Haemonchus contortus*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 4 (2), 125-128.
143. Walkden-Brown SW, Kahn LP. 2002. Nutritional Modulation of Resistance and Resilience to Gastrointestinal Nematode Infection-A Review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 15 (6), 912-924.
144. Walker RS, Miller JE, Monlezun CJ, LaMay D, Navarre C, Ensley D. 2013. Gastrointestinal nematode infection and performance of weaned stocker calves in response to anthelmintic control strategies. *Veterinary Parasitology*, 197 (1), 152–159.
145. Waller PJ. 2006. From discovery to development: current industry perspectives for the development of novel methods of helminth control in livestock. *Veterinary Parasitology*, 139, 1-14.
146. Wilcox ML, Cosentino MJ, Pink R, Bodeker G, Wayling S. 2001. Natural products for the treatment of tropical diseases. *Trends in Parasitology*, 17 (2), 58-60.
147. Williams JC, Bilkovich FR. 1973. Distribution of *Ostertagia ostertagi* infective larvae on pasture herbage. *American Journal of Veterinary Research*, 34 (10), 1337-1344.