

Efecto *in vitro* del extracto de *Lotus corniculatus* L. sobre nemátodos gastrointestinales bovinos

In vitro effect of extract of *Lotus corniculatus* L. on bovine gastrointestinal nematodes

Carlos Eduardo Rodríguez Molano, Yesid Cely Reatiga, Diego Francisco Gómez Lara

Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Boyacá, Colombia.

RESUMEN

Introducción: las parasitosis son consideradas como uno de los problemas más importantes que afectan la producción bovina, debido a la disminución de los parámetros productivos y reproductivos.

Objetivos: determinar el efecto del extracto *Lotus corniculatus* L. *in vitro* sobre nemátodos gastrointestinales bovinos.

Métodos: se usaron las hojas en estado seco de *L. corniculatus* con una edad de rebrote de 45 y 70 días, el extracto fue etanólico y se obtuvo mediante lixiviación, el extracto se conservó a temperatura de 4 °C, se utilizó el extracto puro y diluciones obedeciéndose a un intervalo de 1,5 mg/mL. Para determinar el efecto del extracto se trabajó mediante la técnica de eclosión de huevos (Egg hatch assay) para los nemátodos: *Bunostomum* sp, *Strongyloides papillosus* y *Trichostrongylus colubriformis*, tomando como mínimo eficaz un porcentaje del 60 %. Se determinó la presencia de taninos.

Resultados: se encontró una inhibición de eclosión de huevos *S. papilus* con la concentración máxima y la dilución 1 y 2, para el extracto de 45 días de rebrote, con porcentajes de 100 %, 86 % y 66,5 %; el extracto con 70 días de rebrote mostró un porcentaje de inhibición de eclosión únicamente[1] con la concentración máxima y la dilución 1, con 98,5 % y 78,5 %. Para el *T. colubriformis* la única dilución que no fue eficaz fue la dilución 4 del extracto de 70 días de rebrote con un porcentaje de 50,5 % y para el *Bunostomun spp* fue eficaz el extracto con la concentración máxima y la dilución 1 para el extracto de 45 y 70 días de rebrote, con porcentajes de 100 % y 69,5 % para el de 45 días y 100 % y 68,5 % para el de 70 días.

Conclusiones: el extracto de *L. corniculatus* de 45 y 70 días de rebrote mostro los resultados más satisfactorios en inhibición de eclosión de huevos de *T. colubriformis*.

Palabras claves: fitoterapia; control biológico; eclosión.

ABSTRACT

Introduction: The parasites are considered as one of the most important issues affecting cattle production due to the decline in productive and reproductive parameters.

Objective: Determine the effect of *Lotus corniculatus* L. extract on *in vitro* bovine gastrointestinal nematodes.

Methods: Leaves were used in the dry state with *L. corniculatus* regrowth age 45 to 70 days, and the ethanolic extract was obtained by leaching, the extract was stored at 4 °C, the pure extract was used and dilutions obeying a range of 1.5 mg/mL. To determine the effect of the extract worked through the technique of hatching eggs (Egg hatch assay) for nematodes: *Bunostomum ssp*, *Trichostrongylus* and *Strongyloides papillosus*, on the effective minimum percentage of 60 %. The presence of tannins was determined.

Results: Inhibition of egg hatching *S. papilus* with maximum concentration and dilution 1 and 2, to extract 45 days of regrowth, with percentages of 100 %, 86 % and 66.5 % respectively was found; extract regrowth 70 days showed a percent inhibition of hatching only the maximum concentration and dilution 1, 98.5 % and 78.5 %. For *T. colubriformis* the only was ineffective dilution was 4 dilution extract regrowth 70 days with a percentage of 50.5 % and for *Bunostomun spp* extract was effective with a high concentration and dilution 1 for extract 45 and 70 days of regrowth, with rates of 100 % and 69.5 % for 45 days and 100 % and 68.5 % for 70 days.

Conclusions: *L. corniculatus* extract 45 and 70 days of regrowth showed the most satisfactory results in inhibition of hatching eggs of *T. colubriformis*.

Keywords: phytotherapy; biological control; hatching.

INTRODUCCIÓN

Las parasitosis son consideradas como uno de los principales problemas que afectan la producción bovina a nivel mundial, debido al impacto negativo ejercido sobre parámetros productivos y reproductivos. Estos problemas son más evidentes en los países tropicales y subtropicales, donde los pastos constituyen la base alimenticia de los rumiantes, y donde estos contienen una gran cantidad de formas parasitarias. El método más utilizado para el control de parásitos en animales ha sido el uso de productos químicos denominados antihelmínticos;^{1,2} aunque este método aún mantiene su vigencia por ser una medida eficaz en el control de parásitos, la tendencia actual se orientan hacia un enfoque más flexible, integrándose varios métodos para contrarrestar esta problemática.³

Por tal motivo el control de los parásitos gastrointestinales constituye un reto científico y de innovación para avanzar hacia metas de mejorar la competitividad económica y la sostenibilidad ambiental de la actividad productiva del sector agropecuario.

Los distintos enfoques para el uso de antihelmínticos que se encuentran en la actualidad bajo investigación incluyen:

- Control biológico de nemátodos utilizándose hongos nematófagos.
- Cría de ganado con resistencia a nematodos.
- Desarrollo de vacunas contra helmintos.⁴
- Consumo de forrajes bioactivos.⁴

Los resultados iniciales sugieren que el consumo de forrajes que contengan taninos condensados podría afectar el ciclo biológico de los parásitos gastrointestinales,⁵ pues se ha observado la disminución de excreción de huevos en heces, y por lo tanto podría contribuir al cambio en la frecuencia de presentación de estas enfermedades parasitarias.⁶

Es así como se ha determinado que además del efecto antiparasitario de *L. corniculatus* en ovinos y caprinos la asociación con gramíneas permite aumentar la producción de forraje, generándose incrementos significativos en la producción y calidad de la leche de bovinos.⁷

Por tal motivo investigar las bondades del *L. corniculatus* y sus efectos sobre nemátodos gastrointestinales, pretende mejorar la producción de las explotaciones pecuarias. El objetivo de este trabajo es determinar si el extracto del *L. corniculatus* y su utilización *in vitro* puede llegar a tener acción sobre nemátodos gastrointestinales bovinos.

MÉTODOS

El ensayo se desarrolló en el laboratorio de Control Biológico de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia (UPTC), en la Ciudad de Tunja, Boyacá.

Los parásitos adultos se colectaron de tractos gastrointestinales de bovino provenientes de la planta de sacrificio de la ciudad de Tunja; los cuales fueron procesados mediante la técnica de necropsia parasitaria de animales.¹ Los individuos se recuperaron vivos y se clasificaron utilizándose las claves taxonómicas Hoogstraal (H), según su género, conservándose solo las hembras adultas de *Strongyloides papillosus*, *Trichostrongylus colubriformis* y *Bunostomum phlebotomum*. Una vez obtenidas y aisladas las hembras adultas, se lavaron dos veces en solución salina y se depositaron en una caja de petri con la misma solución, luego fueron llevadas a la incubadora a 35 °C por dos días, estas condiciones permitieron la ovoposición y la maduración de los huevos.⁸

Selección del material vegetal

El *L. corniculatus* se seleccionó de una colección del género Lotus de la unidad de recursos genéticos forrajeros (URGF) de la Universidad Nacional de Colombia, localizada en el municipio de Mosquera (Cundinamarca) a 4°42' de latitud norte y 74°12' de longitud oeste, con una altitud promedio de 2650 metros sobre el nivel del mar (msnm) y temperatura promedio de 13 °C. En un área de 2 x 5 m, a los 45 días de rebrote, se cosecho la mitad del área y a los 70 días de rebrote se cosecho la porción restante. Las muestras fueron guardadas en neveras para su traslado al Laboratorio de Control Biológico de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Posterior, se realizó el etiquetado y montaje del mismo, donde se determinó y se incluyó a la colección de referencia del Herbario de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, bajo la denominación de *Bravo PW*, en el 2013.

Elaboración de extracto etanólico

Método de lixiviación

El material vegetal previo macerado se colocó en una columna de extracción hasta las dos terceras parte de su capacidad (100 g). Se adicionó una solución de etanol 100 % (solvente) hasta llenar la columna. La cual fue conectada a una manguera para retroalimentación, este proceso de flujo continuo se llevó a cabo durante 24 h. Después se obtuvo el etanol-extracto; una vez liberado todo el etanol, se agregó más solvente y se repitió el proceso hasta que la coloración fuese débil. Para finalizar se llevó el extracto al rotoevaporador Heidolph® Heizbard Hei-vap. Se utilizaron 1800 g de materia seca, para cada edad de desarrollo, de los cuales se obtuvieron 182 mL (45 días) y 185 mL (70 días) de extracto puro. Este se conservó a 4 °C. Del extracto obtenido se determinó su concentración a través de la obtención de su peso seco.⁹

Determinación de peso seco

Se tomaron 3 beaker de 5 mL marcados. Se pesaron, se adicionó 1 mL de extracto en cada uno y se llevó a la estufa hasta alcanzar 100 °C para secar la totalidad, en seguida se registró el peso obtenido. Se calculó la diferencia entre los 2 valores, obteniéndose como resultado la concentración del filtrado en mg/mL de cada beaker. Para reducir el margen de error en el pesaje, se realizó la media aritmética del peso de los 3 beaker alcanzándose la concentración del extracto en mg/mL a ser utilizada en las pruebas.⁹

$$\text{Media} = \frac{\text{beaker 1} + \text{beaker 2} + \text{beaker 3}}{3}$$

Determinación de las concentraciones del extracto

Se utilizó el extracto etanólico concentrado. Se determinó su concentración por la obtención del peso seco, y esta fue considerada como la mayor concentración posible de ser utilizada en las pruebas. La concentración obtenida fue de 166,8 mg/mL y 153 mg/mL (45 y 70 días). Se determinaron las demás concentraciones del extracto, a partir de la mayor concentración del extracto obtenido, las demás concentraciones fueron calculadas obedeciéndose a un intervalo fijo de 1,5⁹ entre las mismas, de tal forma que los valores (mg/mL) de las concentraciones no sean muy próximos ni muy distantes entre sí (tabla 1).

Tabla 1. Concentraciones utilizadas del extracto de *L. corniculatus*

	Extracto puro 45 días	Extracto puro 70 días
Concentración máxima	166,8 mg/ mL	153,5 mg/ mL
Dilución 1	111,2 mg/ mL	102,4 mg/ mL
Dilución 2	74,1 mg/ mL	68,2 mg/ mL
Dilución 3	49,4 mg/ mL	45,5 mg/ mL
Dilución 4	32,9 mg/ mL	30,3 mg/ mL

Identificación cualitativa de Taninos

Se evaluó la presencia o no de taninos usándose el cambio de coloración del extracto etanólico, se tomó una alícuota de 1 mL de extracto de *L. corniculatus*, en un tubo de ensayo se le adicionó 1 mL de cloruro férrico al 5 % se dejó reaccionar durante dos minutos y se procedió a la lectura, confirmando o no la presencia del metabolito secundario

Pruebas *in vitro*

Se evaluaron dos experimentos *in vitro* para determinar la actividad del extracto etanólico de *L. corniculatus* sobre la eclosión de huevos de *Trichostrongylus colubriformis*, *Strongyloides papillosus* y *Bunostomum phlebotomum*. Se utilizaron 10 cámaras húmedas para cada tratamiento y para cada nemátodo, lo que corresponde a 10 réplicas por tratamiento. En cada cámara fueron colocados 20 huevos no desarrollados. En el primero se utilizó *L. corniculatus* con una edad de rebrote de 45 días y en el segundo se utilizó *L. corniculatus* con una edad de rebrote de 70 días, para cada género de nemátodo por separado. Cada experimento tuvo ocho tratamientos, con réplicas: control positivo, control negativo, concentración máxima y 4 diluciones calculadas obedeciéndose siempre a un intervalo fijo de 1,5¹ (tabla 1). En los grupos control, se utilizó Albendazol al 10 %, agua destilada y etanol.

Prueba de actividad

Para el cultivo de larvas, se usaron dos cajas de Petri. Una de tamaño corriente (10 cm de diámetro) que contiene el material en cultivo y va colocada dentro de otra mayor (15 cm de diámetro) con agua a altura de 1 cm. La caja menor va sin tapa, la grande tapada. Así se formó la "cámara húmeda" con el cultivo, se colocó en una incubadora, a temperatura de 24-27 °C durante 7-8 días.¹⁰ Como material de cultivo fue utilizado: materia fecal bovina previamente desecada, esterilizada a 140 - 150 ° C y pulverizada. Para determinar la actividad nematicida del *L. corniculatus* se utilizó la prueba de eclosión de huevos (Egg hatch assay) para la detección de resistencia a los benzimidazoles.¹¹ Para esta prueba se incubaron mediante la técnica de cultivo de larvas, huevos de nemátodos no desarrollados en concentraciones del extracto, por 5 días y luego se determinó la proporción de huevos que no eclosionaron. Para determinar la efectividad de los extractos se utilizó 166,8 mg/mL (*L. corniculatus* 45 días) y 153,5 mg/mL (*L. corniculatus* 70 días), de la cual se hicieron 4 diluciones a intervalos fijos de 1,5.

Parámetros a evaluar

Los parámetros considerados para evaluar los tratamientos y las diferentes diluciones fueron: número de huevos expuestos (HE_x), números de huevos no eclosionados (HNE) y % de huevos no eclosionados (% HNE).

Análisis estadístico

Se empleó un diseño por bloques al azar en donde se tuvieron las dos variables combinadas; la edad de la planta y la concentración del extracto. Se efectuaron 10 réplicas con 20 observaciones. Se determinó por medio de un análisis de varianza multivariado la edad de la planta y la concentración del extracto en la cual hubo mayor inhibición de la eclosión larval de los nemátodos testeados.

Se determinó el porcentaje (%) de huevos no eclosionados "% HNE"

$$\% \text{HNE} = \frac{\text{HNE}}{\text{HE}_x} * 100$$

HNE = número de huevos no eclosionados

HE_x = número de huevos expuestos

% HNE = porcentaje de huevos no eclosionados

RESULTADOS

Inhibición de eclosión de *Strongyloides papillosus*

La actividad del *L. corniculatus* con rebrote de 45 días para el *Strongyloides papillosus*, mostró efecto positivos en la concentración máxima (166,8 mg/mL) con un porcentaje de huevos no eclosionados del 100 %, las diluciones 111,2 mg/mL, 74,1 mg/mL, 49,4 mg/mL y 32,9 mg/mL mostraron 86 %, 66,5 %, 51,5 % y 45,5 % de huevos no eclosionados. El porcentaje de huevos no eclosionados con los extractos de *L. corniculatus* con edad de rebrote de 70 días fue de 98,5 % a concentración 153,5 mg/mL; de 78,5 % a concentración 102,4 mg/mL; de 58,5 % a concentración 68,2 mg/mL; de 49 % a concentración 45,5 mg/mL y de 40,5 % a concentración 30,3 mg/mL (tabla 2).

Inhibición de eclosión *Trichostrongylus colubriformis*

Para *Trichostrongylus colubriformis* los extractos mostraron valores de huevos no eclosionados del 100 %, 99,5 %, 83 %, 73,5 % y 64 % para cada una de las concentraciones y diluciones de *L. corniculatus* de edad de rebrote de 45 días. Por su lado los extractos de *L. corniculatus* de edad de rebrote 70 días mostraron porcentajes de huevos no eclosionados del 100 %, 96,5 %, 80 %, 61 % y 50,5 % (tabla 3).

Tabla 2. Efecto del extracto alcohólico de *Lotus corniculatus*, sobre la eclosión de huevos *in vitro* de *Strongyloides papillosus*

Edad de Rebrote	45 Días				70 Días			
	Conc.	HEX	HNE	% HNE	Conc.	HEX	HNE	% HNE
Concentración máxima	116,8 mg/mL	200	200	100	153,5 mg/mL	200	197	98,5
Dilución 1	111,2 mg/mL	200	200	86	102,4 mg/mL	200	157	78,5
Dilución 2	74,1 mg/mL	200	200	66,5	68,2 mg/mL	200	117	58,5
Dilución 3	49,4 mg/mL	200	200	51,5	45,5 mg/mL	200	98	49
Dilución 4	32,9 mg/mL	200	200	45,5	30,3 mg/mL	200	81	40,5

HEX: huevos expuestos; HNE: huevos no eclosionados;
% HNE: porcentaje de huevos no eclosionados.

Tabla 3. Efecto del extracto alcohólico de *L. corniculatus*, sobre la eclosión de huevos *in vitro* de *Trichostrongylus colubriformis*

Edad de Rebrote	45 Días				70 Días			
	Conc.	HEX	HNE	% HNE	Conc.	HEX	HNE	% HNE
Concentración máxima	166,8 mg/mL	200	200	100	153,5 mg/mL	200	200	100
Dilución 1	111,2 mg/mL	200	199	99,5	102,4 mg/mL	200	193	96,5
Dilución 2	74,1 mg/mL	200	166	83	68,2 mg/mL	200	160	80
Dilución 3	49,4 mg/mL	200	147	73,5	45,5 mg/mL	200	122	61
Dilución 4	32,9 mg/mL	200	128	64	30,3 mg/mL	200	101	50,5

HEX: huevos expuestos; HNE: huevos no eclosionados;
% HNE: porcentaje de huevos no eclosionados.

Inhibición de eclosión *Bunostomum spp*

El extracto del *L. corniculatus* con edad de rebrote de 45 días sobre la eclosión de huevos de *Bunostomum spp*, mostró porcentajes de 100 %, 69,5 %, 51 %, 41,5 % y 35,5 % para las concentraciones dadas. Por su parte los extractos con edad de rebrote de 70 días presentaron porcentajes de 100 %, 68,5 %, 43 %, 38,5 % y 34 %, para cada una de las concentraciones (tabla 4).

Tabla 4. Efecto del extracto alcohólico de *L. corniculatus*, sobre la eclosión de huevos *in vitro* de *Bunostomum spp*

Edad de Rebrote	45 Días				70 Días			
	Conc.	HEX	HNE	% HNE	Conc.	HEX	HNE	% HNE
Concentración máxima	166,8 mg/mL	200	200	100	153,5 mg/mL	200	200	100
Dilución 1	111,2 mg/mL	200	139	69,5	102,4 mg/mL	200	137	68,5
Dilución 2	74,1 mg/mL	200	102	51	68,2 mg/mL	200	86	43
Dilución 3	49,4 mg/mL	200	83	41,5	45,5 mg/mL	200	77	38,5
Dilución 4	32,9 mg/mL	200	71	35,5	30,3 mg/mL	200	68	34

HEX: huevos expuestos; HNE: huevos no eclosionados;
% HNE: porcentaje de huevos no eclosionados.

Grupos control

Se realizó una prueba testigo con un control positivo albendazol al 10 % y un control negativo con agua destilada y etanol. Para el caso del control positivo se observó un total de huevos no eclosionados de 98,9 % para los tres géneros de nemátodos, *Strongyloides papillosus*, *Trichostrongylus colubriformis* y *Bunostomum spp* y para cada edad de rebrote del *L. corniculatus*, para el agua destilada y el etanol el % HNE para el *Strongyloides papillosus* fue del 1 %, para el *Trichostrongylus colubriformis* fue del 0,5 % y para el *Bunostomum spp* fue del 0 % ;en la edad de rebrote de 45 días; en la edad de 70 días el %HNE fue de 0 % para los géneros *Strongyloides papillosus* y *Trichostrongylus colubriformis*, el *Bunostomum spp* tuvo un % HNE de 1 % (tabla 5); esto indica que no intervinieron factores ambientales al momento de realizar las pruebas.

Tabla 5. Control negativo

	45 Días			70 Días		
	HEX	HNE	% HNE	HEX	HNE	% HNE
S. papillosus	200	2	1	200	0	0
T. colubriformis	200	1	0,5	200	0	0
Bunostomum spp	200	0	0	200	2	1

DISCUSIÓN

La planta estudiada en el presente trabajo se eligió debido a que fue nombrada en fuentes de etnobotánica como activa en el control de parásitos gastrointestinales en animales e identificadas con potencial antihelmíntico.

Al evaluar el extracto de *L. corniculatus* en su concentración máxima y sus diluciones, se observa una constante pérdida del efecto ejercido sobre la inhibición de la eclosión de huevos de nematodos gastrointestinales de bovinos, conforme disminuye la concentración. Del extracto usado, la dilución 4 muestra una efectividad casi nula en todos los parámetros evaluados. La concentración máxima del extracto de *L. corniculatus* figura un efecto promisorio sobre la inhibición de la eclosión de huevos de los tres géneros de nematodos evaluados en este trabajo.

L. corniculatus redujo la eclosión de huevos en todas las especies de nematodos evaluadas en el presente estudio. Estos resultados concuerdan con los antecedentes que muestran que esta especie de planta fue identificada por su alto contenido en taninos y por su efecto antihelmíntico en equinos.¹²

En el caso del control positivo según lo reportado por Mencho y colaboradores,¹³ la reducción de las cargas parasitarias en niveles significativos de 99 % al 100 %; en el tratamiento con Albendazol, demuestra que conserva su efectividad garantizando su empleo como control y la ausencia de resistencia. El uso de albendazol para disminuir los niveles de parásitos internos demuestra, que estos siempre se mantienen bajos frente a los no tratados.¹¹

Los efectos de diferentes concentraciones de taninos pueden ser medidos, mostrándose que a concentraciones superiores a 16 %, aparecen efectos clínicos.¹⁴ Los datos obtenidos confirman que los taninos condensados afectan la población de nemátodos adultos en cabras como se había demostrado en ovejas. En contraste pocos datos están disponibles sobre la influencia de taninos condensados sobre larvas. Sin embargo también afirma que el extracto tiene impacto sobre el establecimiento de L3 de *T. colubriformis* y *T. circumcincta*.

Durante esta investigación se presentaron porcentajes de mortalidad, similares a los estudios realizados por Muñoz,¹⁵ donde los extractos acuosos de plantas pertenecientes a la familia de las fabáceas como es el caso de *Sarothamnus scoparius* contienen alcaloides, flavonoides, saponinas, taninos, que son compuestos polares; han demostrado una considerable eficacia sobre los oxiuros *Syphacia obvelata*.

Se encontró una relación directa dosis-respuesta entre la concentración de los extractos de *Lupinus ballianus* y el porcentaje de eficacia encontrado; vale la pena recalcar que la acción sobre el oxiuro *Aspicularis tetraptera* es mayor que sobre *Syphacia obvelata*. Encontrándose valores de porcentaje de eficacia de 33,14 %, 35,65 % y 44,25 % sobre el oxiuro *Aspicularis tetraptera*. El extracto de la parte aérea contiene alcaloides, flavonoides taninos que podrían participar de la acción nematocida del extracto.

En estudios *in vitro* utilizando extractos de taninos¹² condensados han disminuido la migración de L3 de *Trichostrongylus colubriformis* en ovejas, demostrándose su posible efecto para disminuir la carga parasitaria, afectándose la movilidad y su habilidad para migrar. Otros estudios han demostrado evidencias de los efectos antihelmínticos de los taninos condensados purificados, causándose reducción de la supervivencia¹ y el desarrollo de larvas de nematodos.^{2,14}

Existen reportes en los cuales se señala que los taninos presentes en las leguminosas actúan sobre los parásitos. Así, por ejemplo se indica que se han utilizado forrajes ricos en taninos como medida alternativa de control de helmintos en ovejas, reduciéndose el uso de químicos, el costo en el tratamiento¹⁶ y mejorándose el manejo del rebaño, al mismo tiempo que se asegura una adecuada nutrición. El efecto de las plantas ricas en taninos reporta una notable disminución del conteo de huevos en materia fecal.¹⁷

En algunos estudios se ha encontrado una disminución de la carga parasitaria cercana al 50 % cuando se usan especies de leguminosa del género *Lotus* con respecto a alfalfa y raigrás.¹⁸ Se reporta que el *L. corniculatus* redujo la cantidad del parásito en abomaso (*H. contortus*) y disminuyó el conteo de huevos en materia fecal en un 60 % con respecto al grupo control.¹⁹

A pesar que no se encuentran otros estudios sobre esta planta para el control de la inhibición de oviposición de *Bunostomum sp*, *S. papillosus* y *T. colubriformis*, otras plantas medicinales de frecuente hallazgo en el departamento de Boyacá han demostrado efecto antihelmíntico e ixodicida con extracto puro y en diluciones similares a las utilizadas en este estudio. Dentro de dichas plantas se destaca *N. tabacum*, *B. arborea*, con mayor eficacia, seguidas por *S. nigra* y *B. pilosa*.²⁰ Estudios realizados con las mismas plantas, para evaluar el efecto insecticida sobre la mosca *H. irritans* indican mayor eficacia para el tabaco, seguida por *B. arborea* y *S. nigrum* con menor eficacia, para *B. pilosa* y la *A. cumarensis*, cuando el extracto se obtuvo por el método Soxhlet que cuando este se hace por extracción etanólica en frío.²¹

Cabe la pena destacar que los extractos presentan efecto nematocida frente a *S. papillosus*, *T. colubriformis* y *Bunostomum spp*, pero en mayor proporción contra *T. colubriformis* el *L. corniculatus*, muestra diferencias significativas frente a los demás géneros expuestos, ya que la cantidad de soluto empleado para obtener un número de huevos no eclosionados, superior al 60 % es reducida frente a los otros nemátodos.

Los efectos de diferentes concentraciones de taninos pueden ser medidos, mostrándose que a concentraciones superiores a 16 %, aparecen efectos clínicos.¹⁹ Los datos obtenidos confirman que los taninos afectan la población de nemátodos adultos en cabras como se había demostrado en ovejas. En contraste pocos datos están disponibles sobre la influencia de taninos condensados sobre larvas. Sin embargo, también afirma que el extracto tiene impacto sobre el establecimiento de L3 de *T. colubriformis* y *T. circumcincta*. Además, se observa que a mayor dilución del extracto se presenta una menor mortalidad en todos los tratamientos, lo que indica que el efecto está determinado por la dosis, como lo confirma Pulido y Cruz, en su trabajo en el control ixodicida con extractos de *R. graveolens* y *V. officinalis*.²²

Es así como, comparándose los resultados obtenidos se puede concluir que el extracto etanólico que presentó los mejores índices de huevos no eclosionados sobre los tres géneros de nemátodos es el de 45 días de rebrote.

Teniéndose en cuenta que los componentes activos de las plantas pueden variar por muchos factores, es recomendable la realización de trabajos similares, donde se evalúe la acción de esta planta, utilizándose diferentes partes de la planta (hojas, raíces, frutos) y diferentes métodos extracción como, extracción en caliente (Soxhlet), hidrolatos, infusión, etc. Además, de evaluar el efecto sobre la fecundidad de nemátodos gastrointestinales de bovinos y realizar pruebas in vivo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Butte RN, Dawson J, Wakelin D, Buttery P. Effect of dietary condensed tannins on gastrointestinal nematodes. J Agric Sci. 2001 [citado 16 Ene 2015];137(04). Disponible en: <http://journals.cambridge.org/action/displayAbstract?fromPage=online&aid=94293&fileId=S0021859601001605>.
2. Pérez-Pérez C, Hernández V. Efecto antihelmíntico *in vitro* del extracto metanólico de hojas de *Gliricidia sepium* contra nemátodos gastrointestinales de ovinos. Tropical and Subtropical Agroecosystems [Internet]. 2014 [citado 17 Ene 2015];17(1):105-11. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=93930735013>
3. Hoskin SO, Wilson PR, Pomroy WE, Barry TN. Effects of chicory (*cichorium intybus*) on farmed deer growth and internal parasitism. In XX international grassland congress: offered papers; 2005.
4. Min BR, Hart SP. Tannins for suppression of internal parasites. Journal of Animal Science [Internet]. 2003 [citado 13 Marzo 2014];81(14):102-9. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1093/jas/81.14.102>
5. Soca M. La agroforestería y taninos condensados, una estrategia para el control de la parasitosis de los pequeños rumiantes. In XIII congreso venezolano de producción animal. San Juan de los Morros; 2006.

6. Athanasiadou S, Kyriazakis I. Plant secondary metabolites: antiparasitic effects and their role in ruminant production systems. *Proceedings of the nutrition society*; 2004. p. 63.
7. Barrabí-Puerta M. Actividad antihelmíntica *in vitro* de extracto acuoso de hojas y semillas de Neem (*Azadirachta indica* A. Juss). I. Inhibición de la eclosión de huevos y del desarrollo larvario. *Revista de Salud Animal* [internet]. 2013 [citado 4 Noviembre de 2014];35(2):103-8. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2013000200005&lng=es&nrm=iso. ISSN 0253-570X.
8. Niec R. Cultivo e identificación de larvas infectantes de nematodos gastrointestinales del bovino y ovino. Manual técnico N° 3. Argentina: INTA; 1968. p. 1-37.
9. Paolini V, Frayssines A, Farge F, Dorchies P, Hoste H. Effects of condensed tannins on established populations and on incoming larvae of *Trichostrongylus colubriformis* and *Teladorsagia circumcincta* in goats. *Veterinary Research*. 2003;34(3):331-9.
10. Cárdenas E, Murillo M. potencial forrajero del género *Lotus* para el trópico de altura andino colombiano. *Revista colombiana de ciencias pecuarias*; 2007. p. 20.
11. Coles GC. The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary parasitology*. 2006;136(3):167-85.
12. LassaK EV, McCarthy T. Australian medical plants. Australia: Methuen; 1983.
13. Mencho Ponce JD, Guerra Llorens Y, Padilla Villavicencio L, Rodríguez Diego JG, Beltrão Molento M. Eficacia antihelmíntica de la Ivermectina 1 % (Labiomec®) en rebaños ovinos de Camagüey, Cuba: *Rev Salud Anim*. 2013 [citado 11 de Ago 2015];35(2):134-6. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2013000200009&lng=es.
14. Carlos O, Juárez E. Control de la helmintiasis en bovinos de invernada en el contexto de resistencia a los antiparasitarios. *Información para Extensión*; 2012.
15. Muñoz L. Validación del efecto antihelmíntico de plantas usadas por la medicina tradicional. Tesis Doctoral. Tesis para obtener el Grado de Bachiller en Medicina. Lima: Universidad Peruana Cayetano Heredia; 1999. p. 32-46.
16. Niezen JH, Waghorn TS, Raufaut K, Robertson HA, McFarlane RG. Lamb weight gain and faecal egg count when grazing one of seven herbage and dosed with larvae for six weeks. In *proceedings-new zealand society of animal production*. New Zealand society of animal prod publ. 1994;54:15.
17. Baroni L. Evaluating the environmental impact of various dietary patterns combined with different food production systems. *European Journal of Clinical Nutrition*. 2007;61(2):279-86.
18. Heckendorn F. Individual administration of three tanniferous forage plants to lambs artificially infected with *Haemonchus contortus* and *Cooperia curticei*. *Veterinary Parasitology*. 2007;146(1):123-34.

19. Rodríguez A, Rodríguez M, Cruz C. Anastasia. Efecto ixodicida de los extractos etanólicos de algunas plantas sobre garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Rev. MVZ Córdoba [internet]. 2010 [citado 3 Oct 2014];15(3):2175-84. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-02682010000300005&lng=en&nrm=iso.
20. Ramírez AM, Cruz A, Rodríguez C. Evaluación preliminar del efecto de los extractos etanólicos de cinco plantas medicinales sobre la mosca de los cuernos *Haematobia irritans* L. (Diptera: Muscidae). Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica. 2009;12(1):69-78.
21. Tzamaloukas O, Athanasiadou S, Kyriazakis I, Huntley J, Jackson F. The effect of chicory (*Chicorium intybus*) and sulla (*Hedysarum coronarium*) on larval development and mucosal cell responses of growing lambs challenged with *Teladorsagia circumcincta*. Cambridge university press. 2006;132(3):419-26.
22. Pulido Suarez N, Cruz Carrillo A. Eficacia de los extractos hidroalcohólicos de dos plantas sobre garrapatas adultas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Corpoica cienc. tecnol. agropecu. [Internet]. 2013 [citado 11 Ago 2014];14(1):91-7. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-87062013000100010&lng=en&nrm=iso

Recibido: 2 de febrero de 2015.

Aprobado: 11 de noviembre de 2015.

Carlos Eduardo Rodríguez Molano. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Boyacá, Colombia.

Correo electrónico: carlos.rodriguez@uptc.edu.co