

**Efecto *in vitro* del extracto acuoso de *Dichrostachys cinerea* (L.) Wight & Arn. en el desarrollo de las fases exógenas de estrongílicos gastrointestinales de ovinos**

***In vitro* effect of the aqueous extract of *Dichrostachys cinerea* (L.) Wight & Arn. on the development of exogenous stages of gastrointestinal strongyles in sheep**

J. Arece, Yaíma Roche, Y. López y M. Molina

Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio Hatuey"

Central España Republicana, CP 44280, Matanzas, Cuba

Email: javier.arece@indio.atenas.inf.cu

**Resumen**

Se evaluó el efecto *in vitro* de extractos acuosos de hojas de marabú (*Dichrostachys cinerea*) en la eclosión de huevecillos, el desarrollo larvario y la migración de las larvas del tercer estadio de estrongílicos gastrointestinales. Los tratamientos fueron tres concentraciones de extractos acuosos de hojas de marabú (500, 250 y 125 mg/mL), soluciones de albendazol y levamisol, así como el Phosphate Buffer Saline (PBS) y el dimetilsulfóxido (DMSO) como controles; el diseño fue completamente aleatorizado. Los porcentajes de eclosión presentaron diferencias significativas entre postratamientos. El PBS ocasionó la mayor tasa de eclosión (96,68%); el 30,51% eclosionó con el albendazol y los extractos de hojas de marabú mostraron tasas de eclosión moderadas (entre 49,75 y 66,54%), al parecer dependientes de la dosis. El desarrollo de las larvas L<sub>1</sub>/L<sub>2</sub> a las L<sub>3</sub> tratadas con extracto acuoso de marabú también presentó efectos dosis-dependientes y diferencias significativas con respecto a los grupos controles positivos y negativos. La dosis de 500 mg/mL inhibió el desarrollo larvario en porcentajes similares a los del albendazol (8,89 y 1,28%, respectivamente). El medio PBS no interfirió en la capacidad de migración de las larvas, mientras que con el levamisol los valores se redujeron de 86,45 a 93,92%; los extractos acuosos también redujeron significativamente dicha migración, con valores entre 77,67 y 48,97%. Los extractos acuosos de *D. cinerea* presentaron actividad antihelmíntica *in vitro* en los tres estadios de desarrollo del ciclo exógeno de los estrongílicos gastrointestinales de ovinos; esta actividad resultó más evidente en el desarrollo y la migración de las larvas de estos nemátodos.

Palabras clave: *Dichrostachys cinerea*, ovinos, parásitos

**Abstract**

The *in vitro* effect of aqueous extract of leaves from *Dichrostachys cinerea* on egg hatching, larval development and migration of third-stage larvae of gastrointestinal strongyles, was evaluated. The treatments were three concentrations of aqueous extracts of *D. cinerea* leaves (500, 250 and 125 mg/mL), albendazole and levamisole solutions, as well as Phosphate Buffer Saline (PBS) and dimethyl sulfoxide (DMSO) as controls; the design was completely randomized. The hatching percentages showed significant differences among post-treatments. PBS caused the highest hatching rate (96,68%); 30,51% hatched with albendazole and the *D. cinerea* leaf extracts showed moderate hatching rates (between 49,75 and 66,54%), seemingly dose-dependent. The development of L<sub>1</sub>/L<sub>2</sub> larvae to L<sub>3</sub> treated with aqueous *D. cinerea* extract also showed dose-dependent effects and significant differences with regards to the positive and negative control groups. The dose of 500 mg/mL inhibited larval development in similar percentages as those of albendazole (8,89 and 1,28%, respectively). The PBS medium did not interfere in the larval migration capacity, while with levamisole the values were reduced from 86,45 to 93,92%; the aqueous extracts also significantly reduced such migration, with values between 77,67% and 48,97%. The aqueous *D. cinerea* extracts showed *in vitro* anthelmintic activity in the three development stages of the exogenous cycle of gastrointestinal strongyles in sheep; this activity was more evident in the larval development and migration of these nematodes.

Key words: *Dichrostachys cinerea*, parasites, sheep

### Introducción

La búsqueda de alternativas que minimicen el uso de los antihelmínticos para el control parasitario en pequeños rumiantes constituye un reto para la producción animal mundial, ya que su uso indiscriminado ha provocado una resistencia generalizada a los principales medicamentos antiparasitarios (Arece *et al.*, 2004; Wolstenholme *et al.*, 2004), lo que se agudiza por el lento desarrollo –a corto plazo– de productos con actividad antiparasitaria.

Actualmente, existen diferentes estrategias encaminadas a solucionar la problemática del parasitismo gastrointestinal en los ovinos, entre las que se destacan las relacionadas con el uso de plantas que tienen potencialidades antiparasitarias (Athanasidou *et al.*, 2001; Githiori *et al.*, 2006; Marie-Magdeleine *et al.*, 2010).

En los estudios *in vivo* con plantas nativas de diferentes países se ha reportado una mejor respuesta de los animales ante la infestación parasitaria, lo que se atribuye a: 1) los efectos directos, relacionados con la influencia de algún metabolito secundario de las plantas sobre los parásitos (fundamentalmente taninos condensados), y 2) los efectos secundarios, vinculados a un incremento del estado de resiliencia de los animales, por una mejora en la dieta, al consumir este tipo de plantas (Kyriazakis *et al.*, 2010).

Por otra parte, también se han realizado investigaciones *in vitro* para determinar la actividad de los extractos de plantas en la inhibición de la eclosión de huevecillos, y también en el desarrollo de la migración larvaria y en la motilidad de parásitos adultos (Marie-Magdeleine, 2009). Estos estudios han permitido la selección de un gran número de plantas, de las que se tiene alguna evidencia de actividad antiparasitaria.

En Cuba existen experiencias del uso de fitofármacos en el control parasitario; el resultado de mayor impacto se generó con *Bromelia pinguin* (piña de ratón), la cual fue efectiva ante *Haemonchus* spp. en terneros (Marrero *et al.*, 1994). En México se empleó contra *Oesophagostomum columbianum* en ovinos (Olivares, 2001).

### Introduction

The search for alternatives to minimize the use of anthelmintics for parasite control in small ruminants constitutes a challenge for animal production worldwide, because their indiscriminate use has caused generalized resistance to the main antiparasitic drugs (Arece *et al.*, 2004; Wolstenholme *et al.*, 2004), which is stressed by the slow –short term– development of antiparasitic products.

At present, there are different strategies aimed at solving the problem of gastrointestinal parasitism in sheep, among which the ones related to the use of plants with antiparasitic potential stand out (Athanasidou *et al.*, 2001; Githiori *et al.*, 2006; Marie-Magdeleine *et al.*, 2010).

In the *in vivo* studies with native plants from different countries a better response of the animals to parasite infestation has been reported, which is ascribed to: 1) the direct effects, related to the influence of some plant secondary metabolite on the parasites (mainly condensed tannins), and 2) the secondary effects, linked to an increase of the resilience status of the animals, due to an improvement of the diet, when consuming this type of plants (Kyriazakis *et al.*, 2010).

On the other hand, *in vitro* studies have also been conducted to determine the activity of plant extracts on the inhibition of egg hatching, and also on the development of larval migration and the motility of adult parasites (Marie-Magdeleine, 2009). These studies have allowed the selection of a large number of plants, of which there is some evidence of antiparasitic activity.

In Cuba there are experiences regarding the use of phytopharmaceuticals in parasite control; the result with the highest impact was generated with *Bromelia pinguin*, which was effective against *Haemonchus* spp. in calves (Marrero *et al.*, 1994). In Mexico it was used against *Oesophagostomum columbianum* in sheep (Olivares, 2001).

Among the main secondary metabolites to which antiparasitic effects are ascribed are condensed tannins –CT– (Wolstenholme *et al.*, 2004). *Dichrostachys cinerea* (L.) Wight & Arn

Dentro de los principales metabolitos secundarios a los que se les atribuyen efectos antiparasitarios se encuentran los taninos condensados –TC– (Wolstenholme *et al.*, 2004). El marabú (*Dichrostachys cinerea* (L.) Wight & Arn.) es un arbusto con elevados niveles de este metabolito (Pedraza *et al.*, 2008), por lo que posee potencial para el control parasitario ya que sus TC no necesitan ser desactivados (adición de polietilenglicol o NaOH) antes de suplementar a los pequeños rumiantes con el follaje –ya sea fresco o en forma de harina (Mlambo *et al.*, 2004).

En Cuba esta planta constituye una fuente importante de alimento en muchos de los sistemas productivos de ovejas y cabras, fundamentalmente durante el periodo poco lluvioso. Es por ello que el objetivo del trabajo fue evaluar las propiedades antiparasitarias *in vitro* de extractos acuosos de *D. cinerea*, en tres fases del ciclo biológico de estrongílicos gastrointestinales en ovinos.

### Materiales y Métodos

El estudio se desarrolló en el laboratorio de parasitología de la EEPF “Indio Hatuey”. Las hojas de marabú se cosecharon en el área de pastoreo de la institución, en el horario de la mañana. Se realizó una extracción acuosa con solución de Phosphate Buffer Saline (PBS) en fresco, con el uso de nitrógeno líquido, mediante el método descrito por Díaz *et al.* (2010). Se preparó una solución madre de 500 mg/mL, a partir de la cual se prepararon tres concentraciones para utilizarlas en los ensayos: 500, 250 y 125 mg/mL, identificadas como MAR-500, MAR-250 y MAR-125, respectivamente.

*Prueba de eclosión de huevos* (PEH). Los ensayos se hicieron a partir de las modificaciones a las técnicas descritas por Hubert y Kerboeuf (1984) y Marie-Magdeleine *et al.* (2010). Se evaluaron seis tratamientos, que correspondieron a las tres concentraciones del extracto de hojas de marabú (MAR-500, MAR-250 y MAR-125), el PBS y el dimetilsulfóxido (DMSO) como controles positivos, y el albendazol 0,5% (ABZ), como control negativo.

is a shrub with high contents of this metabolite (Pedraza *et al.*, 2008), for which it has potential for parasite control, because its CTs do not need to be deactivated (addition of polyethylene glycol or NaOH) before supplementing small ruminants with the foliage –fresh or as meal (Mlambo *et al.*, 2004).

In Cuba this plant constitutes an important feed source in many sheep and goat productive systems, mainly during the dry season. For such reason, the objective of this work was to evaluate *in vitro* the antiparasitic properties of aqueous *D. cinerea* extracts, in three stages of the biological cycle of gastrointestinal strongyles in sheep.

### Materials and Methods

The study was conducted in the parasitology laboratory of the EEPF “Indio Hatuey”. The *D. cinerea* leaves were harvested in the grazing area of the institution, in the morning. An aqueous extraction was made with Phosphate Buffer Saline (PBS) solution in fresh, using liquid nitrogen, through the method described by Díaz *et al.* (2010). A mother solution of 500 mg/mL was prepared, from which three concentrations were prepared to be used in the trials: 500, 250 and 125 mg/mL, identified as MAR-500, MAR-250 and MAR-125, respectively.

*Egg hatching assay* (EHA). The assays were conducted from the modifications of or made to the techniques described by Hubert and Kerboeuf (1984) and Marie-Magdeleine *et al.* (2010). Six treatments were evaluated, which corresponded to the three concentrations of the *D. cinerea* leaf extract (MAR-500, MAR-250 and MAR-125), PBS and dimethyl sulfoxide (DMSO) as positive controls, and albendazole 0,5% (ABZ), as negative control. Strongyle eggs were collected from infested animals (Hubert and Kerboeuf, 1992) and they were deposited in 24-well cell culture plates, to be faced with the different solutions or experimental treatments. The eggs were incubated during 48 h and, after that time, the hatching was stopped with 100 µL of Lugol’s solution. The larvae and eggs were counted in 20 aliquots of 10 µL and the hatching

Se colectaron huevos de estrongílidos de animales infestados (Hubert y Kerboeuf, 1992) y se depositaron en placas de cultivo celular de 24 pocillos, para ser enfrentados con las diferentes soluciones o tratamientos experimentales. Los huevos se incubaron durante 48 h y, transcurrido ese tiempo, se detuvo la eclosión con 100  $\mu$ L de solución de Lugol. Las larvas y los huevos se contaron en 20 alícuotas de 10  $\mu$ L y se determinó el porcentaje de eclosión. El diseño fue completamente aleatorizado, con seis réplicas por tratamiento.

*Prueba de desarrollo larvario (PDL).* Los estudios se hicieron a partir de las modificaciones realizadas a las técnicas descritas por Hubert y Kerboeuf (1984) y Assis *et al.* (2003). Se emplearon los mismos tratamientos que en la PEH. El principio del ensayo consistió en exponer los huevos eclosionados a las distintas soluciones, para evaluar el desarrollo de las larvas  $L_1/L_2$  hacia  $L_3$  o larvas infestantes, según la técnica propuesta por Marie-Magdeleine *et al.* (2010). Las  $L_1/L_2$  se obtuvieron mediante el procedimiento descrito en la PEH y se alimentaron con una solución nutritiva. A las 48 h se aplicaron las soluciones y después de ocho días se detuvo el proceso de muda con 100  $\mu$ L de solución de Lugol. Se contaron las  $L_1/L_2$  y las  $L_3$ , y se determinó el porcentaje de larvas infestantes.

*Prueba de migración larvaria (PML).* El principio de esta prueba consistió en enfrentar las larvas del tercer estadio –obtenidas mediante coprocultivos (Roberts y O’Sullivan, 1952)– a las tres concentraciones del extracto acuoso, a un control positivo (PBS) y a uno negativo (levamisol, LV). Se empleó el método descrito por Marie-Magdeleine *et al.* (2010), que consistió en enfrentar una cantidad conocida de larvas  $L_3$  a las soluciones, en un tubo de ensayo Falcon® cónico, durante dos horas. Después de sucesivos lavados con PBS, se pusieron a migrar a través de un tamiz de 20  $\mu$ m en un dispositivo preparado con este fin. A continuación se determinó la cantidad de larvas migradas y se calculó el porcentaje de migración.

*Análisis estadístico.* Los datos se procesaron con el paquete estadístico SPSS®. Los

percentage was determined. The design was completely randomized, with six replications per treatment.

*Larval development test (LDT).* The studies were conducted from the modifications made to the techniques described by Hubert and Kerboeuf (1984) and Assis *et al.* (2003). The same treatments as in the EHA were used. The assay principle consisted in exposing the hatched eggs to the different solutions, to evaluate the development of  $L_1/L_2$  larvae to  $L_3$  or infective larvae, according to the technique proposed by Marie-Magdeleine *et al.* (2010). The  $L_1/L_2$  were obtained by means of the procedure described in the EHA and were fed with a nutritional solution. After 48 h the solutions were applied and after 8 days the molt process was stopped with 100  $\mu$ L of Lugol’s solution. The  $L_1/L_2$  and  $L_3$  were counted and the percentage of infective larvae was determined.

*Larval migration test (LMT).* The principle of this test consisted in presenting the third stage larvae –obtained through coprocultures (Roberts and O’Sullivan, 1952)– to the three concentrations of the aqueous extract, a positive control (PBS) and a negative control (levamisole (LV)). The method described by Marie-Magdeleine *et al.* (2010) was used, consisting in presenting a known quantity of  $L_3$  larvae to the solution, in a conical Falcon® test tube, during two hours. After successive washings with PBS, they were put to migrate through a 20  $\mu$ m sieve in a device prepared for such purpose. Afterwards, the quantity of migrated larvae was determined and the migration percentage was calculated.

*Statistical analysis.* The data were processed with the statistical pack SPSS®. The percentage values ( $X$ ) of each test were transformed ( $\arcsin \sqrt{X}$ ), to make a simple variance analysis. The variance homogeneity and normal data distribution was tested. The differences among means were calculated through Duncan’s multiple range comparison test (Duncan, 1955).

## Results and Discussion

Figure 1 shows the effect of the aqueous *D. cinerea* extracts and the respective control

valores porcentuales ( $X$ ) de cada prueba se transformaron ( $\arcsen \sqrt{X}$ ), para realizar un análisis de varianza de clasificación simple. Se comprobó la homogeneidad de las varianzas y la distribución normal de los datos. Las diferencias entre las medias se calcularon mediante la prueba de comparación de rangos múltiples de Duncan (1955).

### Resultados y Discusión

En la figura 1 se muestra el efecto de los extractos acuosos de marabú y los respectivos grupos controles, en la eclosión de los huevecillos. Los porcentajes de eclosión mostraron diferencias significativas ( $p \leq 0,01$ ): el PBS tuvo las mayores tasas de eclosión (96,68%), mientras que ante el albendazol eclosionó el 30,51% de estos, lo cual demuestra la efectividad de este fármaco sobre la viabilidad de los huevecillos de los nemátodos gastrointestinales (Martin *et al.*, 1997).

Por su parte, los extractos acuosos de hojas de marabú permitieron tasas de eclosión moderadas (entre 49,75 y 66,54%), al parecer dosis-dependientes. Estos valores fueron similares a los obtenidos con extractos acuosos de semillas de papaya (*Carica papaya*) e inferiores a

groups, on egg hatching. The hatching percentages showed significant differences ( $p \leq 0,01$ ): PBS had the highest hatching rates (96,68%), while with albendazole 30,51% of the eggs hatched, which proves the effectiveness of this drug on the viability of eggs from gastrointestinal nematodes (Martin *et al.*, 1997).

On the other hand, the aqueous extracts of *D. cinerea* leaves allowed moderate hatching rates (between 49,75 and 66,54%), seemingly dose-dependent. These values were similar to the ones obtained with aqueous extracts of papaya (*Carica papaya*) seeds and lower than those of cassava leaves (*Manihot esculenta*) (12,35%) and banana leaves (*Musa paradisiaca*) (6,14%), reported in the Eastern Caribbean (Guadalupe) by Marie-Magdeleine (2009).

The development of  $L_1/L_2$  larvae to  $L_3$ , with the aqueous *D. cinerea* extract also showed dose-dependent effects (fig. 2) and significant differences ( $p \leq 0,01$ ) with regards to the positive and negative control groups. The dose of 500 mg/mL inhibited larval development in similar percentages as albendazole (8,89 and 1,28%, respectively;  $p \leq 0,01$ ). These values are lower than the ones reported for the aqueous extract

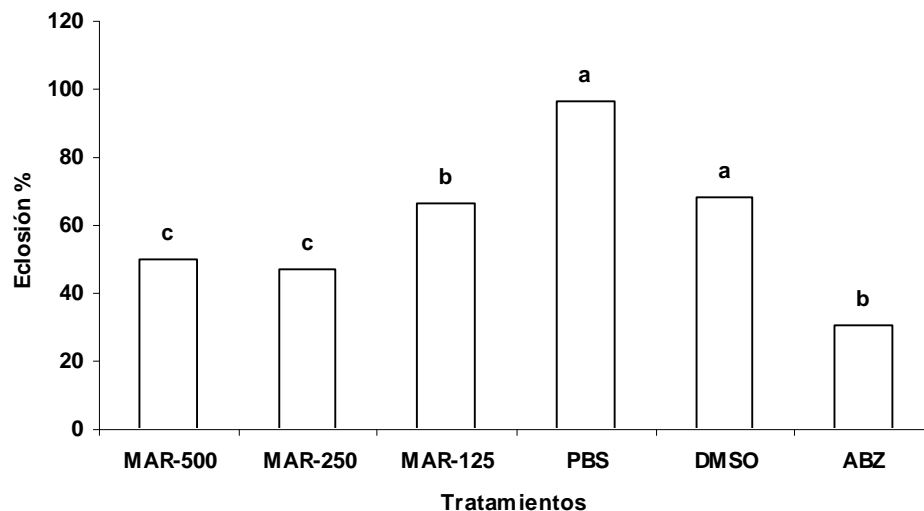


Fig. 1. Efecto del extracto acuoso de marabú sobre el porcentaje de eclosión de huevecillos de estrogilidos gastrointestinales

Fig. 1. Effect of the aqueous *D. cinerea* extract on the hatching percentage of gastrointestinal strongyles

los de hojas de yuca (*Manihot esculenta*) (12,35%) y plátano (*Musa paradisiaca*) (6,14%), informados en el Caribe oriental (Guadalupe) por Marie-Magdeleine (2009).

El desarrollo de las larvas  $L_1/L_2$  a las  $L_3$  con el extracto acuoso de marabú también presentó efectos dosis-dependientes (fig. 2) y diferencias significativas ( $p \leq 0,01$ ) con respecto a los grupos controles positivos y negativos. La dosis de 500 mg/mL inhibió el desarrollo larvario en porcentajes similares a los del albendazol (8,89 y 1,28%, respectivamente;  $p \leq 0,01$ ). Estos valores son inferiores a los reportados para el extracto acuoso de semilla de *C. papaya* (Marie-Magdeleine, 2009) y similares a los obtenidos con semillas de *Cucurbita moschata* (Marie-Magdeleine *et al.*, 2009) y follaje de paradiso (*Melia azedarach*) (Cala *et al.*, 2012). En el presente estudio, los principales efectos se observaron en las larvas del primer y el segundo estadio (desarrollo larvario), aunque también fueron considerables en las  $L_3$  pues inhibieron significativamente ( $p \leq 0,01$ ) la actividad migratoria de estas (fig. 3). Cala *et al.* (2012) obtuvieron un comportamiento similar en *M. azedarach* y *Trichilia clausenii*.

El efecto de los extractos acuosos en la migración de las larvas  $L_3$  se muestra en la figura 3. El

of *C. papaya* seed (Marie Magdeleine, 2009) and are similar to the ones obtained with *Cucurbita moschata* seeds (Marie-Magdeleine *et al.*, 2009) and *Melia azedarach* foliage (Cala *et al.*, 2012). In this study, the main effects were observed in the first and third stage larvae (larval development), although they were also remarkable in  $L_3$ , because their migratory activity was significantly ( $p \leq 0,01$ ) inhibited (fig. 3). Cala *et al.* (2012) obtained a similar performance in *M. azedarach* and *Trichilia clausenii*.

The effect of the aqueous extracts on the migration of  $L_3$  larvae is shown in figure 3. PBS did not remarkably interfered in the migration capacity of the larvae, while levamisole showed an 86,45-93,92% reduction ( $p \leq 0,01$ ) in this indicator. On the other hand, the *D. cinerea* extracts also significantly ( $p \leq 0,01$ ) reduced migration, with values between 77,67 and 48,97%. This could have occurred due to the direct effects of free condensed tannins –present in this plant-, which interfere in the movement capacity of the larvae, or to the direct intervention in cuticle loss.

*D. cinerea* is considered a tanniniferous plant, with values of 178 g/kg DM of this secondary metabolite (Mlabo *et al.*, 2004). In Cuba, Pedraza *et al.* (2008) reported total polyphenol contents of 120 g/kg DM.

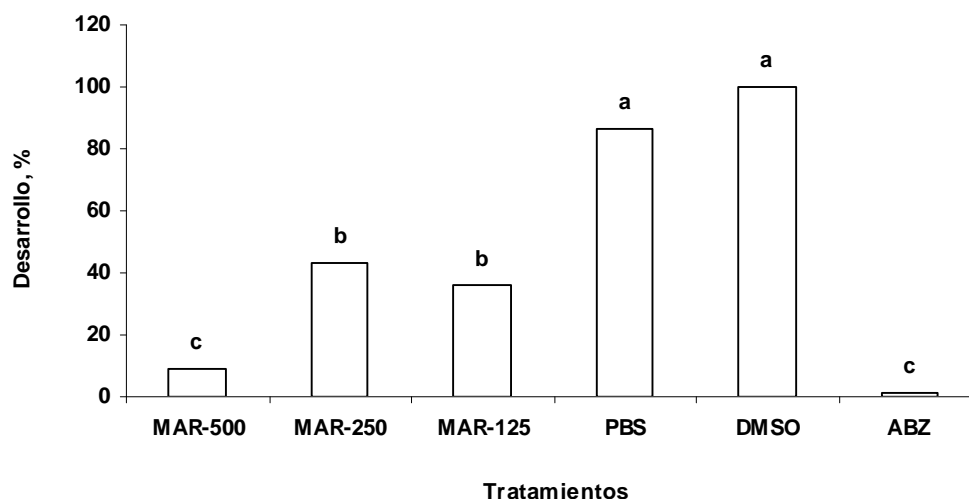


Fig. 2. Desarrollo de las larvas de estróngílicos gastrointestinales, de  $L_1/L_2$  a  $L_3$ , ante el efecto del extracto acuoso de marabú en diferentes concentraciones

Fig. 2. Larval development of gastrointestinal strongyles, from  $L_1/L_2$  to  $L_3$ , before the effect of the aqueous *D. cinerea* extract in different concentrations

PBS no interfirió notablemente en la capacidad de migración de las larvas, mientras que el levamisol mostró una reducción de 86,45 a 93,92% ( $p \leq 0,01$ ) en este indicador. Por su parte, los extractos de marabú también redujeron significativamente ( $p \leq 0,01$ ) la migración, con valores entre 77,67 y 48,97%. Esto pudo deberse a los efectos directos de los taninos condensados libres –presentes en esta planta–, los cuales interfieren en la capacidad de movimiento de las larvas, o a la intervención directa en la pérdida de la cutícula.

El marabú es considerado como una planta tanífera, con valores de 178,4 g/kg de MS de este metabolito secundario (Mlambo *et al.*, 2004). En Cuba, Pedraza *et al.* (2008) reportaron contenidos de polifenoles totales de 120 g/kg de MS.

La forma en que actúan los TC continúa en debate, y existen dos hipótesis; la primera de ellas se sustenta en los posibles efectos directos de estas sustancias, al poseer la capacidad de formar complejos con las proteínas libres de los parásitos del tracto gastrointestinal (Mueller-Harvey, 2006), por lo que se reduce la capacidad de asimilación de los nutrientes. Además, estos son capaces de unirse a la cutícula de la larva (rica en glicoproteínas) y causar su muerte (Cala *et al.*, 2012). Por otro lado, se ha demostrado que los TC disminuyen la capacidad de

The way in which CTs act is still being debated, and there are two hypotheses; the first one is based on the possible direct effects of these substances, which have the capacity to form complexes with the free proteins of gastrointestinal parasites (Mueller-Harvey, 2006), for which nutrient assimilation capacity is reduced. In addition, they are capable of binding to the larval cuticle (rich in glycoproteins) and cause its death (Cala *et al.*, 2012). On the other hand, CTs have been proven to decrease the fecundation capacity of parasites (Martínez-Ortiz de Montellano *et al.*, 2010) and have direct effects on the adult stages causing important structural lesions, which propitiates the death of the parasite (Manolaraki *et al.*, 2010; Martínez-Ortiz de Montellano *et al.*, 2010).

The second hypothesis is based on the fact that condensed tannins can interfere directly in the parasite biology, through the increase in the immunological response of the animals (Hoste *et al.*, 2006). This could have been related to the increase of the flow and absorption of proteins and aminoacids directly in the small intestine, as a result of their lower degradation in the rumen, because of the presence of tannins. In this sense, Aróstica (2011) reported low parasite infestation rates in goats, in grazing areas with predominance of *D. cinerea*, which practically constitutes the

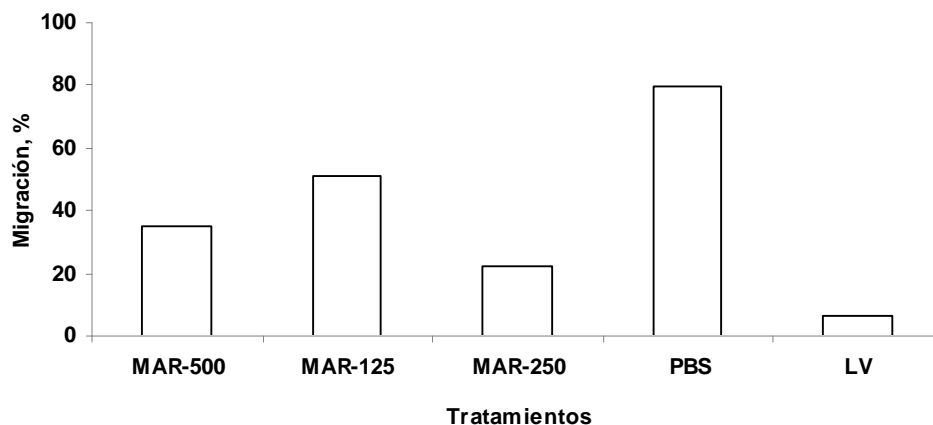


Fig. 3. Efecto del extracto acuoso de marabú sobre el porcentaje de migración de las  $L_3$  de estrogilidos gastrointestinales

Fig. 3. Effect of the aqueous *D. cinerea* extract on the  $L_3$  migration percentage of gastrointestinal strongyles

fecundación de los parásitos (Martínez-Ortíz de Montellano *et al.*, 2010) y tienen efectos directos sobre los estadios adultos que causan lesiones estructurales de importancia, lo cual propicia la muerte del parásito (Manolaraki *et al.*, 2010; Martínez-Ortíz de Montellano, 2010).

La segunda hipótesis se basa en que los taninos condensados pueden interferir indirectamente en la biología parasitaria, a través del incremento en la respuesta inmunológica de los animales (Hoste *et al.*, 2006). Ello pudiera estar relacionado con el incremento del flujo y la absorción de proteínas y aminoácidos directamente en el intestino delgado, como resultado de una menor degradación de estas en el rumen, debido a la presencia de los taninos. En este sentido, Aróstica (2011) informó bajas tasas de infestación parasitaria en cabras, en áreas de pastoreo con predominio de marabú, la cual constituye prácticamente la única fuente de alimentación durante el periodo poco lluvioso en las condiciones de Cuba.

Este estudio evidenció la existencia de posibles efectos dosis-dependientes en la eclosión y el desarrollo larvario, que no quedaron tan claros en el caso de la migración larvaria, ya que las dosis más altas fueron más efectivas en los dos ensayos sobre las primeras fases de vida de estos parásitos. Probablemente estos efectos estén relacionados con la presencia de la cutícula en las L<sub>3</sub>, lo que las hace más resistentes que los estadios anteriores (L<sub>1</sub> y L<sub>2</sub>).

La investigación demostró los efectos antihelmínticos *in vitro* del extracto acuoso de hojas de marabú, con efectos dosis-dependientes en la eclosión y el desarrollo larvario. Los mejores resultados se obtuvieron con la concentración de 500 mg/mL. Se recomienda el diseño de estudios *in vivo* que permitan confirmar la actividad antiparasitaria en los parásitos adultos.

#### Agradecimientos

Esta investigación fue financiada por la International Foundation for Science (Proyecto B/4610) y la Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio Hatuey" (Proyecto Institucional 9567).

only feeding source during the dry season under Cuban conditions.

This study proved the existence of possible dose-dependent effects on hatching and larval development, which were not so clear in the case of larval migration, because the highest doses were more effective in the two assays on the first life stages of these parasites. These effects are probably related to the presence of cuticle in L<sub>3</sub>, which makes them more resistant than the previous stages (L<sub>1</sub> and L<sub>2</sub>).

The research showed the *in vitro* anthelmintic effects of the aqueous extract of *D. cinerea* leaves, with dose-dependent effects on hatching and larval development. The best results were obtained with the concentration of 500 mg/mL. The design of *in vivo* studies which allow confirming the antiparasitic activity on adult parasites is recommended.

#### Acknowledgements

This study was funded by the International Foundation for Science (Project B/4610) and the Experimental Station of Pastures and Forages "Indio Hatuey" (Institutional Project 9567).

--End of the English version--

#### Referencias bibliográficas

- Arece, J. *et al.* 2004. Comparative efficacy of six anthelmintic for the control of nematodes in sheep in Matanzas, Cuba. *Small Ruminant Research*. 5 (1-2):61
- Aróstica, N. 2011. Comportamiento de los nemátodos gastrointestinales en cabras lecheras sometidas a tratamientos antiparasitarios selectivos. Tesis presentada en opción al título académico de Máster en Prevención. Universidad Agraria de La Habana, Mayabeque, Cuba. 86 p.
- Assis, L.M. *et al.* 2003. Ovicidal and larvicidal activity *in vitro* of *Spigelia antheimia* Linn. extracts on *Haemonchus contortus*. *Veterinary Parasitology*. 117:43
- Athanasiadou, S. *et al.* 2001. Direct anthelmintic effects of condensed tannins towards different gastrointestinal nematodes of sheep: *in vitro* and *in vivo* studies. *Veterinary Parasitology*. 99:205
- Cala, A.C. *et al.* 2012. *In vitro* anthelmintic effect of *Melia azedarach* L. and *Trichilia clausenii* C.



- against sheep gastrointestinal nematodes. *Experimental Parasitology*. 130:98
- Díaz, Maykelis *et al.* 2010. Determinación de antioxidantes en variedades e híbridos de *Morus alba*. *Pastos y Forrajes*. 33:301
- Githiori, J.B. *et al.* 2006. Use of plants in novel approaches for control of gastrointestinal helminths in livestock with emphasis on small ruminants. *Veterinary Parasitology*. 139:308
- Hoste, H. *et al.* 2006. The effects of tannin-rich plants on parasitic nematodes in ruminants. *Trends in Parasitology*. 22:253
- Hubert, J. & Kerboeuf, D. 1984. A new method for culture of larvae used in diagnosis of ruminant gastrointestinal strongylosis: Comparison with fecal cultures. *Canadian Journal of Comparative Medicine*. 48:63
- Hubert, J. & Kerboeuf, D. 1992. A microlarval development assay for the detection of anthelmintic resistance in sheep nematodes. *Veterinary Record*. 130:442
- Kyriazakis, I. *et al.* 2010. Nutritional strategies to control gastrointestinal parasitism in small ruminants. *Advances in Animal Biosciences*. 1:390
- Manolaraki, F. *et al.* 2010. Anthelmintic activity of some mediterranean browse plants against parasitic nematodes. *Parasitology*. 137:684
- Marie-Magdeleine, Carine. 2009. Etude de ressources végétales tropicales pour un usage anthelminthique en élevage de ruminants. Tesis presentada en opción al grado de Doctor en Ciencias Agronómicas. Universidad de las Antillas. Guadalupe F.W.I. 276 p.
- Marie-Magdeleine, Carine *et al.* 2009. *In vitro* effects of *Cucurbita moschata* seed extracts on *Haemonchus contortus*. *Veterinary Parasitology*. 161:99
- Marie-Magdeleine, Carine *et al.* 2010. *In vitro* effects of *Tabernaemontana citrifolia* extracts on *Haemonchus contortus*. *Research in Veterinary Science*. 89 (1):88
- Marrero, Evangelina *et al.* 1994. Actividad antihelmíntica de *Bromelia pinguin* L (*Bromeliaceae*) en terneros. *Revista de Salud Animal*. 16 (1-3):63
- Martín, R.J. *et al.* 1997. Target sites of anthelmintics. *Parasitology*. 114:S111
- Martínez-Ortíz de Montellano, Cintli. 2010. Mécanismes d'action de plantes riches en tanins sur les nématodes gastrointestinaux adultes des petits ruminants. Tesis presentada en opción al grado de Doctor en Ciencias Agropecuarias. Universidad de Toulouse, Francia. 124 p.
- Martínez-Ortíz de Montellano, Cintli *et al.* 2010. Effect of a tropical tannin-rich plant *Lysiloma latisiliquum* on adult population of *Haemonchus contortus* in sheep. *Veterinary Parasitology*. 172:283
- Mlambo, V. *et al.* 2004. Tanniniferous *Dichrostachys cinerea* fruits do not require detoxification for goat nutrition: *in sacco* and *in vivo* evaluations. *Livestock Production Science*. 90:135
- Mueller-Harvey, I. 2006. Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 86:2010
- Olivares, J. 2001. *Oesophagostomum columbianum*: Puesta en evidencia, caracterización y control en ovinos de la región de Huichapán, Estado de Hidalgo, México. Tesis presentada en opción al grado de Doctor en Ciencias Veterinarias. CENSA. La Habana, Cuba. 137 p.
- Pedraza, R. *et al.* 2008. Indicadores fenológicos y valor nutritivo *in vitro* del marabú, *Dichrostachys cinerea*, durante la época seca. *Zootecnia Tropical*. 26 (3):219
- Roberts, F.H.S. & O'Sullivan, J.P. 1952. Methods for egg counts and larval cultures for strongyles infesting the gastrointestinal tract of cattle. *Australian Agricultural Research*. 1:99
- Wolstenholme, A.J. *et al.* 2004. Drug resistance in veterinary helminths. *Trends in Parasitology*. 20:469

Recibido el 5 de julio del 2012  
 Aceptado el 21 de julio del 2012

## III Congreso Internacional de Desarrollo Local

**Sede:** Palacio de Convenciones de La Habana

**Fecha:** 6 al 9 de noviembre de 2013

### Objetivos del congreso:

- Favorecer la formación de redes de personas e instituciones relacionadas con el desarrollo local.
- Exponer e intercambiar experiencias de desarrollo local que hayan tenido éxito.
- Promover investigaciones que fomenten la orientación de políticas y estrategias de desarrollo local sostenible.
- Difundir buenas prácticas en materia de desarrollo local sostenible.
- Propiciar que las políticas públicas incorporen el desarrollo local en sus agendas de gestión y posicionen al ciudadano como factor de cambio y protagonista de nuevas oportunidades.

### Áreas temáticas:

El III Congreso Internacional de Desarrollo Local se estructura en nueve áreas temáticas, cada una de las cuales se organiza en sesión independiente:

- El desarrollo territorial ante la globalización.
- Escalas, territorios y modelos de desarrollo.
- Desarrollo local y fomento económico.
- Cooperativismo y desarrollo local.
- Ordenamiento territorial y planificación estratégica en el ámbito local.
- Descentralización y desarrollo local.
- Medio ambiente y desarrollo local.
- Turismo y desarrollo local.
- Administraciones públicas locales.

### Perfil de participantes:

Profesionales de los ámbitos: laboral, de docencia, de investigación y toma de decisiones, del sector público y privado, interesados en adquirir o ampliar su conocimiento teórico-conceptual y metodológico en las herramientas o instrumentos que permiten operar o ejecutar proyectos de desarrollo territorial a escala local. Economistas, geógrafos, sociólogos, antropólogos, arquitectos, especialistas en derecho, técnicos en ciencias ambientales y otros científicos preocupados por la teoría y la práctica del desarrollo local.

### Contactos:

#### Comité Ejecutivo

Dr. Juan A, Márquez Domínguez, antonio@uhu.es

Dr. Roberto González Sousa, rgsousa@geo.uh.cu/ rgsousa2007@gmial.com

Dr. Arturo Rúa de Cabo, arturo@geo.uh.cu/aruadecabo@bol.com.br

Lic. Karen Aguilar Mugica. Secretaria, desarrollolocal@geo.uh.cu

#### Palacio de Convenciones de La Habana, Cuba

Lic. Katia Iris Medina Reyes.

Organizadora Profesional de Congresos.

Telf. (537) 203 8958; 202 6011 al 19 ext. 1511

Fax: (537) 202 8382

E-mail: katia@palco.cu