

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

**“EFECTO DE UN EXTRACTO DE TANINOS CONDENSADOS DE QUEBRACHO
(SCHINOPSIS BALANSAE) Y DE PROBIÓTICOS, EN LOS NEMATODOS
GASTROINTESTINALES DE OVINOS EN PASTOREO”**

Por

**Diego ARMAND UGON ROSTÁN
Ramiro ORIHUELA PERUCHENA**

**TESIS DE GRADO presentada como
uno de los requisitos para obtener el
título de Doctor en Ciencias Veterinarias
Orientación Producción Animal**

MODALIDAD Ensayo Experimental

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2018**

PÁGINA DE APROBACIÓN

Tesis de grado aprobada por:

Presidente de mesa: _____

Dra. Georgget Banchemo

Segundo miembro (Tutora): _____

Dra. América Mederos

Tercer miembro: _____

Dra. Alicia Dib.

Cuarto miembro (Co-tutora): _____

Dra. Analía Perez

Fecha:

08 / 03 / 2018

Autores:

Diego Armand Ugon Rostan

Ramiro Orihuela Peruchena

AGRADECIMIENTOS

Queremos agradecer especialmente a nuestras familias, a Sol Fassani y Lucía Menoni por el apoyo y respaldo incondicional durante todo este largo trayecto universitario.

A las Dras. América Mederos, Analía Pérez, Georgget Banchemo y al Ing. Alejandro Mendoza por su gran ayuda y dedicación en todo momento.

A todos los integrantes de INIA Tacuarembó especialmente a Dra. Sabrina Pimentel, Dra. Stephanie Lara, Lic. Beatriz Carracelas, Bachiller Erick Limbert y al equipo de pastura de INIA Tacuarembó por ayudarnos a realizar los trabajos en el laboratorio y de campo.

Al Ing. Agr. Alberto Bozzo y familia por abrirnos las puertas de su establecimiento y continua amabilidad.

Al personal del campo de Paso del Sauce que hicieron posible que el ensayo se pudiera llevar a cabo.

A Ing. Leofar Camera y Dr. Rafael Orihuela por el apoyo técnico y de campo.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN	2
AGRADECIMIENTOS	3
LISTA DE TABLAS Y FIGURAS	5
LISTA DE ABREVIATURAS	6
1-RESUMEN	7
2-SUMMARY	8
3-INTRODUCCIÓN	9
4-REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	10
5-HIPÓTESIS	19
6-OBJETIVOS	19
7-MATERIALES Y MÉTODOS	20
8-RESULTADOS	25
9-DISCUSIÓN	34
10-CONCLUSIÓN	37
11-BIBLIOGRAFÍA	38

LISTA DE TABLAS Y FIGURAS

	Página
Esquema 1 -Diagrama de la distribución de los potreros por tratamiento.	20
Figura 1 - Disponibilidad de la masa forrajera en kg de MS/ha discriminado por potrero y por mes, durante el período experimental.	25
Figura 2 -Resultado de la evolución promedio del peso vivo (expresado en kg) de los animales de los 3 tratamientos, durante el período enero-julio 2016.	27
Figura 3 -Número de animales en cada categoría de Famacha© discriminado por tratamiento y durante todo el período experimental.	28
Figura 4 -Resultados de la evolución promedio de los conteos de huevos por gramo de materia fecal (HPG) de los corderos de los tres tratamientos, durante el período enero-julio 2016.	29
Figura 5 - Resultado de los promedios de larvas infestantes de <i>H. contorus</i> y <i>Trichostrongylus spp.</i> , recuperados de los coprocultivos, diferenciados por tratamiento durante el período enero-julio 2016.	30
Figura 6 -Número de dosificaciones recibidas por un mismo animal durante el período experimental discriminado por grupo experimental.	33
Tabla 1 - Resultados de los análisis de laboratorio de la pastura.	26
Tabla 2 - Promedios de huevos por gramos (HPG) agrupados por grado de Famacha y para cada uno de los tratamientos durante todo el periodo experimental	31

LISTA DE ABREVIATURAS

CH: Carbohidratos

CN: Campo natural

D: Digestibilidad

EM: Energía metabolizable

EQ: Extracto de quebracho

FAD: Fibra ácido detergente

FND: Fibra neutro detergente

GPV: Ganancia de peso vivo.

HPG: Huevos por gramo de materia fecal

mo: Microorganismos

MS: Materia seca

%NDT: Nutrientes digestibles totales

NGI: Nematodos gastrointestinales

PB: Proteína bruta

PV: Peso vivo

Sc: *Saccharomyces cerevisiae*

TC: Taninos condensados

TH: Taninos hidrosolubles

1-RESUMEN

El objetivo planteado en este trabajo fue evaluar el efecto de la suplementación con un extracto natural de taninos condensados provenientes de *Schinopsis balansae* (Quebracho) y además el efecto de la utilización de cepa de levadura *Saccharomyces cerevisiae* (LEVUCCELL®SC) frente a la infección natural de nematodos gastrointestinales (NGI) en corderos en su etapa de recría, desarrollada a campo natural. El trabajo presentó una duración de 175 días. Se utilizaron corderos machos enteros y hembras de raza Merino Australiano destetados en otoño, los cuales estaban naturalmente infectados con nematodos gastrointestinales con una carga parasitaria promedio inicial aproximadamente de 600 huevos por gramo de materias fecales. El mismo se llevó a cabo en el departamento de Artigas, sobre campo natural con un suelo de basalto superficial, a la vez que se los suplementó con un balanceado especialmente formulado para corderos (20% proteína y 2.5 Mcal energía metabolizable en base seca) y fue ofrecido al 1 % de peso vivo (PV) por animal, suplementados de forma grupal. En total se utilizaron 90 corderos parasitados naturalmente y asignados al azar a 3 tratamientos (n= 30 por cada tratamiento), el grupo Control: los cuales disponían de campo natural y suplemento para corderos, el grupo Probiótico: también se encontraban a campo natural, con ración para corderos y el agregado de LEVUCCELL®SC a base de la cepa de levadura *Saccharomyces cerevisiae*. El grupo Tanino: se alimentaban de campo natural, ración para corderos con el agregado de 1% de extracto natural de taninos condensados provenientes de *Schinopsis balansae* (Quebracho). Se registraron los PV individuales, se realizó la técnica de Famacha® cada 14 días. Además se extrajo muestra de materia fecal para posterior análisis coproparasitario (conteo de huevos de nematodos y cultivo de larvas). Se dosificaron únicamente los animales que presentaban niveles de HPG mayores de 4000; su grado de Famacha era de 4 o 5 (anémicos). Además, se analizó el campo natural cada 30 días, determinando la masa forrajera, proteína bruta, fibra detergente neutra, fibra detergente ácida y nutriente digestibles totales para cada potrero. No se observaron diferencias significativas en la evolución promedio de los PV de los animales en los distintos tratamientos, se contabilizaron más animales con grados de Famacha® 2 y 3, sobre todo en los grupos Taninos y Probióticos, no se observó diferencias significativas en el conteo de HPG de los distintos tratamientos, pero se registró una tendencia a menores conteos de HPG en los corderos de los tratamientos Taninos y Probióticos. Se encontró una mayor presencia de los estados libres de *H. contortus* en los meses más cálidos (febrero-abril), aumentando la presencia de *Trichostrongylus spp.* en los meses de invierno, hubo un mayor número de animales de los grupos taninos y probióticos que no recibieron dosificaciones en todo el período. Se concluye que la utilización de métodos alternativos como el uso de la técnica de Famacha®, el uso de taninos y probióticos en la dieta de corderos, tuvo efecto sobre el control parasitario, donde se observó menor número de dosificaciones con antihelmínticos a aquellos animales de los grupos Tanino y Probiótico y además una tendencia a menores conteos de HPG en los mismos grupos. A nivel productivo no se obtuvo diferencias significativas entre los tratamientos.

Palabras claves: ovinos, nematodos gastrointestinales, control no químico, taninos condensados, probióticos.

2-SUMMARY

The objective of this work was to evaluate the effect of supplementation with a natural extract of condensed tannins from *Schinopsis balansae* (Quebracho) and also the effect of the use of yeast strain *Saccharomyces cerevisiae* (LEVUCELL®SC) against the natural infection of gastrointestinal nematodes (NGI) in lambs in its rearing stage, developed in the natural field. The work had a duration of 175 days. Whole male and female breeds of Australian Merino weaned in autumn were used, which were naturally infected with gastrointestinal nematodes with an initial average parasite load of approximately 600 eggs per gram of feces. The same was carried out in the department of Artigas, on a natural field with a superficial basalt soil; at the same time they were supplemented with a special balanced formulation for lambs (20% protein and 2.5 Mcal metabolizable energy on dry basis) and was offered at 1% live body weight (BW) per animal, supplemented in a group. In total 90 naturally parasitized lambs were used and randomized to 3 treatments (n=30 for each treatment): Control group: receiving a protein supplement for lambs, Probiotic group: receiving the same supplement with the addition of LEVUCELL®SC based on the yeast strain *Saccharomyces cerevisiae* and Tannin group: receiving same supplement plus the addition of 1% natural extract of condensed tannins from *Schinopsis balansae* (Quebracho). All lambs carried naturally infected with gastrointestinal nematode infections and grazing native pasture. Every 14 days Individual BW and Famacha © score was recorded and fecal samples were obtained. In the laboratory coprological analysis (fecal egg counts (EPG) and larval culture were performed. Criteria for drenching was defined when EPG were greater than 4000 and/or Famacha score was 4 or 5 (anemic). Pasture samples were taken every 30 days to determine forage mass, crude protein, neutral detergent fiber and acid detergent fiber and total digestible nutrients for each paddock. Briefly, no significant difference was observed in BW gain for the lambs between treatments. The Famacha score 2 and 3, were greater especially in the Tannins and Probiotics groups. There was a tendency for the lambs of the Tannins and Probiotics treatments to have fecal egg count lower than the control, however, the difference was non significant. *Haemonchus* sp was the most prevalent genera from January to April and then *Trichostrongylus* spp was the most abundant. The number of anthelmintic treatments were lower in the tannin and probiotic groups compared with the control (P<0.05). The main conclusion from this study is that the use of tannins and probiotics in lambs diet, had a positive effect on parasitic control and animal performance.

Key words: ovine, gastrointestinal nematodes, non-chemical control, condensed tannins, probiotics

3-INTRODUCCIÓN

En los sistemas ganaderos de Uruguay, los nematodos gastrointestinales (NGI) son endémicos en ovinos y bovinos. El uso de las drogas químicas como método casi exclusivo de control se ha vuelto poco sustentable debido al desarrollo de resistencia a casi todas las drogas químicas. Estudios realizados a nivel nacional han detectado resistencia a uno o más grupos de antihelmínticos (Nari y col., 1996; Mederos y col., 2015).

En la literatura tanto nacional como internacional, existen muchas propuestas alternativas de control de los NGI en rumiantes. La mayoría de ellas incluyen el manejo de la nutrición (van Houtert y col., 1995), selección de animales genéticamente resistentes (Gray, 1987), uso de forrajes bioactivos (Oliveira y col., 2011; Banchemo y col., 2012), uso de control biológico (Thamsborg y col., 1999) y manejo del pastoreo (Barger, 1999).

En nuestro país, disponemos de muchos de los llamados “forrajes bioactivos” (por ejemplo, *Lotus corniculatus*, *L. uliginosus*, *L. subbiflorus*, *Holcus lanatus*), los cuales son utilizados en diferentes etapas de la cadena productiva tanto en ovinos como en bovinos. Los forrajes bioactivos más utilizados en el país son los pertenecientes a los cultivos del género *Lotus* (*L. corniculatus* “San Gabriel”, “INIA Draco”, “Rigel”; *Lotus subbiflorus* “El Rincón”, *Lotus uliginosus* “GrasslandsMaku”, “LE 306”), los cuales contienen compuestos como ser taninos condensados (TC), más precisamente llamados proantocianidinas (Martínez-Ortiz, 2010). Estos taninos condensados han sido reportados como beneficiosos para la producción animal por proteger la proteína de los microorganismos ruminales y permitir que se absorban directamente en el intestino delgado, incrementando así la fuente de aminoácidos de alto valor nutritivo (Tanner y col., 1994).

Por otro lado, los taninos condensados han sido reportados por tener un efecto beneficioso al controlar los NGI de los rumiantes y además disminuir la emisión de gases de efecto invernadero. Sin embargo, las pasturas con altos niveles de TC han sido asociados con baja palatabilidad, disminución del consumo y escaso desempeño productivo (Waghorn y col., 1997). A su vez, existen pocos trabajos utilizando los extractos de taninos de quebracho (*Schinopsis balansae*) y de Acacia, lo que lleva a que no quede claro su efecto potencial en cuanto al control de los NGI en rumiantes.

Por otra parte, los probióticos son microorganismos vivos que se incluyen frecuentemente en la dieta de animales de granja para mejorar el equilibrio microbiano del tracto digestivo, lo que resulta en un mejor desempeño animal (McDonald., 2006). Si bien en rumiantes hay considerable información respecto a los efectos de algunos probióticos como las levaduras a nivel de la fermentación ruminal o la digestión de los nutrientes, los reportes referidos a los efectos a nivel de la salud de los mismos son escasos.

4-REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Nematodos gastrointestinales de los ovinos

Los NGI de ovinos y bovinos causan gran impacto económico en los establecimientos ganaderos de Uruguay. Nari y col. (1996) (citado en Fiel y Nari 2013) estudiaron la frecuencia relativa de cada una de estas especies de NGI en ovinos encontrándose: *Haemonchus contortus* (43%), *Trichostrongylus columbriformis* (26%), *Trichostrongylus axei* (12%), *Nematodirus filicollis* y *Nematodirus spathinger* (11%) y en menores cantidades *Ostertagia circumcincta*, *Cooperia punctata*, *Oesophagostomum columbianum*, *Strongyloides papillosus* y *Trichuris ovis*.

El nematodo más importante en ovinos en Uruguay es *H. contortus*, no solo por su patogenicidad que determina pérdidas económicas importantes, sino también porque es el de mayor prevalencia y presenta serios problemas de control por el desarrollo de resistencia antihelmíntica. En Uruguay se lo conoce como lombriz del cuajo, es de climas cálidos, cosmopolita, que se ha adaptado muy bien a estas latitudes. Tiene un alto potencial biótico ya que las hembras de esta especie puede poner entre 5000 a 10000 huevos por día y estos no toleran la desecación o las temperaturas muy frías. Si el verano es seco y el invierno es muy frío se frena el desarrollo de la enfermedad. Esta se presenta en tres etapas: una primera aguda en que aparece anemia aguda y puede llevar a la muerte, una segunda subaguda en la que hay una eritropoyesis compensatoria y una tercera, crónica, con un agotamiento de las reservas y los sistemas de compensación. La etapa de anemia aguda se presenta en Uruguay cuando las condiciones climáticas son muy favorables y encuentra categorías jóvenes muy susceptibles (corderos), lo que puede ocurrir en veranos lluviosos o en otoño (Fiel y Nari, 2013)

La enfermedad cursa con anemia grave, hematocritos inferiores al 18% y una disminución importante de la albúmina sérica. Los animales afectados presentan debilidad general. Las mucosas están muy pálidas y se puede observar agitación (taquipnea) con el animal en quietud. La hipoproteinemia no le permite mantener los niveles adecuados de presión oncótica y se produce pasaje de líquido en la zona intermandibular, generando edema conocido como papera. Si bien las mayores cargas las podemos encontrar en el otoño, *H. contortus* es un nematodo muy dinámico, que cuando ocurren veranos lluviosos provoca brotes clínicos, igual que cuando se producen los veranillos de invierno (Fiel y Nari, 2013)

Impacto productivo de los NGI en ovinos

Los nematodos gastrointestinales impactan la economía de los establecimientos ganaderos a través de dos vías, primero debido al aumento en la compra de insumos (antihelmínticos), mano de obra y segundo debido a las pérdidas productivas (mortalidad, disminución de peso vivo, producción de lana y tasa reproductiva). Las pérdidas a nivel nacional son difíciles de estimar y pueden cambiar sustancialmente en breves períodos. Sin embargo, en un intento de estimar el impacto potencial en ovinos, las pérdidas productivas fueron estudiadas por Castells y col. (1995), quienes determinaron un impacto potencial en corderos que pueden alcanzar hasta un 50% de mortalidad, afectar en un 23,6% la evolución del peso vivo y reducir en un 29,4% la producción de lana. Los mismos animales fueron

evaluados a lo largo de la vida a fin de medir los efectos permanentes, y se encontraron diferencias significativas en el PV del 8% a los cuatro años de vida, promedio de 39 kg en un grupo dosificado estratégicamente y 42,5 kg en un grupo dosificado en forma sorpresiva.

Por otro lado, Fernández Abella y col. (2006) estudiaron los efectos sobre diferentes parámetros reproductivos, encontrándose un marcado efecto negativo de la parasitosis sobre la tasa ovulatoria (1,21, 1,06 y 1,00), las pérdidas embrionarias (5,6%, 12,5% y 20%) y la fecundidad (99,4%, 81,3%, 75,0%) con niveles bajo, medio y alto de carga parasitaria, respectivamente.

Métodos de control antiparasitario

Método químico

A nivel nacional se cuenta con tres grupos de antihelmínticos de amplio espectro, bencimidazoles (Albendazol, Fenbendazol y otros); imidazotiazoles (Levamisol), Morantel y lactonas macrocíclicas (Ivermectina, Doramectina, Moxidectin), un fosforado de espectro medio (Naftalofos), y dos grupos de espectro reducido, salicilanilidas y fenoles sustituidos (Closantel, Rafoxanide, Nitroxinil) y otros fosforados (Triclorfón). En muchos casos, los niveles de resistencia antihelmíntica, obligan a la utilización combinada de estos productos de forma de lograr alta eficacia y amplio espectro simultáneamente. Si bien la determinación de la dosificación táctica depende entre otras cosas de aspectos epidemiológicos, se mantiene el concepto de dosificaciones estratégicas, que en el caso de una majada de cría se realizan en la preencarnerada, parto, señalada y destete. En este sentido y sin considerar problemas de resistencia antihelmíntica, se han reportado buenos resultados con el uso de la Doramectina al destete y del Moxidectin al parto (Castells y Bonino, 2001).

Resistencia parasitaria

En una primera instancia debemos definir resistencia, la misma se define como el cambio genético heredable de los NGI, que permite que en una población haya parásitos que sobreviven al tratamiento químico que generalmente elimina al resto de los parásitos de la misma especie, en la misma etapa de desarrollo y a la misma concentración de la droga. En términos prácticos se dice que existe resistencia a las drogas cuando en una población de parásitos tratada, la eficacia de la droga cae por debajo de lo esperado, habiendo descartado todas las posibles causas que puedan afectar dicha efectividad (Fiel y Nari, 2013).

Los parásitos cuentan con métodos biológicos y genéticos que favorecen la resistencia, tales como poblaciones muy grandes, alta tasa de reproducción, alta capacidad de mutación genética y un ciclo de vida muy corto. Estas características llevan a una rápida tasa evolutiva y a niveles excepcionales de diversidad genética. Las mutaciones que llevan a que un helminto sea resistente son raras de por sí, si tomamos en cuenta el tamaño de la población. Es probable que en condiciones naturales estos individuos desaparezcan del pool genético, a no ser que obtengan alguna ventaja por sobre sus pares. Generalmente esta ventaja está dada por el hombre al aplicar tratamientos químicos. El tratamiento en sí no tiene un efecto

positivo sobre los parásitos resistentes, pero al eliminar a los parásitos no resistentes, los cuales componen la amplia mayoría de la población, estos se ven favorecidos para reproducirse y multiplicarse. Con la consecuente aplicación de drogas sobre los parásitos resistentes, lo que se hace es favorecer aún más esta selección, aumentando así el número de los mismos. Generalmente la detección clínica de niveles de resistencia toma años, lo normal es que se genere un proceso lento y gradual (Ray M. Kaplan, 2015)

Métodos alternativos

Existen múltiples métodos alternativos de control de NGI estudiados a nivel internacional y en algunos de los casos a nivel nacional. Entre ellos se encuentran el manejo del pastoreo; uso de plantas forrajeras conteniendo compuestos secundarios; manejo de la nutrición; uso de ovinos seleccionados por resistencia genética; homeopatías; control biológico y partículas de óxido de cobre (Mederos y col., 2012).

Tratamientos selectivos

Por otro lado, a los efectos de disminución en el uso de antihelmínticos, en lugar de dosificar a la totalidad de los animales de una población, han surgido en los últimos años métodos que apuntan a la dosificación individual, solo a los animales afectados. Para ello, se debe contar con un método que identifique cuales son los animales parasitados, que sea rápido y de fácil aplicación. Un ejemplo de ello son los métodos aplicados en Nueva Zelanda (Drench on Demand) y en Sudáfrica (Famacha©), con diferentes criterios de evaluación dependientes fundamentalmente del nematodo considerado (escore de diarrea para *Trichostrongylus colubriformis* y coloración de la mucosa ocular para *Haemonchus contortus*).

El método de Famacha© se desarrolló en 1990 en Sudáfrica por el Dr. Faffa Malan (de ahí la derivación del nombre del método; *Faffa Malan Chart*) debido al aumento de la resistencia a las drogas antihelmínticas. Este método permite a los granjeros aplicar tratamientos selectivos a los animales que poseen cargas parasitarias altas y así reducir el uso de antihelmínticos y también seleccionar ovejas resilientes o sea aquellas que son capaces de alcanzar buenos niveles de producción a pesar de tener cargas parasitarias moderadas a altas. (Malan y col., 2015).

La idea surgió al observar a los animales en estado salvaje los cuales presentaban altos niveles de parasitismo pero no demostraban signos clínicos. Un experimento en este tema llevado a cabo en una granja de Sudáfrica, contó con (n=372) ovejas Merino, las cuales fueron examinadas todas las semanas por un período de 125 días (Marzo a Julio) y se fueron recabando los siguientes datos: hematocrito, color de las membranas oculares y conteo de huevos en materia fecal. Se tomaron numerosas fotografías de las membranas oculares (muy roja, roja, rosada, rosa-blanco, blanca), junto con los valores de hematocritos correspondientes. Las ovejas fueron tratadas con Levamisol solo cuando el hematocrito alcanzaba valores de 15% o menos. Durante el período de prueba, se evaluó la coloración de la mucosa ocular, se formuló una cartilla para determinar qué animales dosificar (4 y 5 de la escala Famacha©) (Malan y col., 2015).

Taninos condensados y forrajes bioactivos

En todo el mundo, existe información sobre el uso de fitoterápicos en la medicina humana, los cuales poseen actividad contra virus, bacterias, hongos y parásitos. Esto también se extiende a la medicina veterinaria, donde los extractos de plantas con diversas propiedades medicinales son utilizados para controlar problemas sanitarios que comprometen la producción animal (Niezen y col., 1996).

Las plantas desenvuelven mecanismos bioquímicos para defenderse de antagonistas biológicos que actúan como enemigos naturales. Esto llevó a los científicos a investigar sobre los compuestos bioactivos producidos por las plantas y que actúan contra los agentes patógenos.

Los taninos comprenden un gran grupo de compuestos encontrados principalmente en frutos verdes y plantas de familia *Leguminosae*, muy diseminadas en el reino vegetal. Estos compuestos fenólicos son clasificados según su estructura molecular en taninos hidrosolubles (TH) y taninos condensados (TC) (Mederos y col., 2004). Los TC son los más comúnmente encontrados en plantas forrajeras, árboles y arbustos (Barry y col., 1999).

La cantidad y tipo de taninos sintetizados por las plantas varían dependiendo, entre otras cosas, de la especie, cultivar, tejido, estado de desarrollo y condiciones ambientales (Barry y col., 1984).

Los TC han sido los compuestos más estudiados por sus repercusiones fisiológicas y por su amplia distribución ya que no solo están reportados como beneficiosos fundamentalmente en ovinos, sino que también existen muchas evidencias de su efecto favorable en el desempeño productivo (Niezen y col., 1993).

La ubicación de los TC en la planta varía con la especie, por ejemplo: en el caso de los tréboles blanco y rojo los TC se localizan en los pétalos florales; para los casos de *Lotus* y *Holcus lanatus* se presentan principalmente en las hojas en relación a tallos y componentes florales. Los efectos positivos o negativos de los TC en producción animal están relacionados a la concentración de TC por kg de MS y al grado de reactividad de los TC, que en última instancia depende del peso molecular y del contenido de galactocianinas.

Los TC se combinan con las proteínas vegetales formando un complejo estable en el rango de pH 3,5 a 7, pero disociándose con las mismas a pH inferior a 3,5 o superior a 8, como resultado, las proteínas vegetales que contienen TC son protegidas de la degradación microbiana que ocurre en el rumen, y en teoría son finalmente liberadas en el abomaso (pH = 1,3-3,0) para ser posteriormente absorbidas en el intestino delgado. La presencia de agentes surfactantes puede ser muy importante para la disociación de complejos, por lo que surfactantes tales como ácidos biliares que son excretados en intestino delgado, hacen posible que los complejos se disocien en el intestino delgado (Montossi, 1994)

El efecto de los TC sobre rumiantes tiene grandes perspectivas para el control de nematodos o reducción en la ocurrencia de resistencia a las drogas anti-helmínticas, así como su utilización en los sistemas de producción orgánica de rumiantes. En

este sentido, estos extractos tienen la posibilidad de ser utilizados en sistemas de producción donde los quimioterápicos son restringidos o prohibidos. Por lo tanto, los TC pueden ser utilizados en el control alternativo, concomitantemente al control parasitario tradicional, con la finalidad de disminuir la administración de drogas anti-helmínticas convencionales. El conocimiento de la epidemiología de los nematodos es primordial. Además los TC disminuyen la contaminación de las pasturas, disminuye la incidencia de las manifestaciones clínicas de la dolencia, y principalmente, la disminución de la presión de selección sobre los NGI. Se pueden minimizar los fenómenos de multi-resistencia a las drogas anti-helmínticas y prolongar la eficacia de las drogas.

Diversos estudios confirman que plantas han sido utilizadas para el control de NGI en pequeños rumiantes, haciendo uso de extractos, hojas, frutos (baja concentración de TC), utilizando plantas de diferentes regiones (latitudes) del mundo (Makkar y col., 2007).

Niezen y col. (1995) en Nueva Zelanda, reportó una disminución de la carga parasitaria cercana al 50% en ovinos pastoreando especies de *Lotus* spp. y *Sulla* spp. con contenido medios o altos de TC en comparación con Alfalfa (*Medicago sativa*) y Raigras anual (*Lolium multiflorum*) los cuales contienen trazas de TC.

En Uruguay, se reportaron los primeros trabajos para evaluar el efecto de diferentes pasturas mejoradas con contenido bajo-medio en TC, sobre la performance productiva y el efecto sobre los NGI en ovinos (Montossi, 1996). En este trabajo se evaluó el uso de una pastura mejorada mezcla Raigras/*Lotus corniculatus* (San Gabriel) y *Holcus lanatus*/*Lotus corniculatus*, y en esta oportunidad complementariamente a los parámetros productivos, se evaluó el efecto de las pasturas sobre los huevos por gramo (HPG) y la carga parasitaria adulta. Al final del experimento se obtuvieron diferencias significativas y menores tanto en HPG como en parásitos adultos totales en aquellos corderos que pastorearon en mejoramientos de *Holcus lanatus* (cuyo contenido de TC es de bajo a medio) en comparación con aquellos asignados a pasturas de Ryegrass (Montossi y col., 1994).

En años siguientes se continuó evaluando otras leguminosas con contenido medio-alto en TC como es el caso de *Lotus pedunculatus* (Maku), en suelos de Basalto, Iglesias y Ramos (2003) complementariamente a los parámetros productivos, monitorearon la carga parasitaria en un sistema de engorde de corderos sobre mejoramientos de campo de *Lotus corniculatus*, *Lotus pedunculatus*, *Lotus subbiflorus* y *Trifolium* sp.. Los resultados obtenidos por dichos autores fueron valores bajos de HPG durante el período experimental (junio-septiembre 2001) probablemente debido en este caso a los altos niveles de proteína de las diferentes pasturas, ya que no se observaron diferencias significativas en el contenido de TC en las cuatro especies forrajeras evaluadas.

Por otro lado, últimamente disponemos en el mercado de extractos de TC provenientes fundamentalmente de *Shinopsis* spp (quebracho) y *Acacia* spp. Resultados de investigaciones a nivel mundial, usando los mencionados extractos, han reportado resultados alentadores cuando han sido usados para control de parásitos gastrointestinales, tanto en ovinos como en bovinos (Mederos y col., 2012).

En otro trabajo realizado usando extracto de Quebracho como fuente de TC en cabras experimentalmente infectadas con larvas de *T. colubriformis*, comprobaron una disminución en los conteos de HPG, sobre la población de parásitos adultos y un impacto en el establecimiento de las larvas 3 (Paolini y col., 2003).

Butter y col. (2000) utilizaron como fuentes de TC extracto de plantas *Schinopsis spp.*, comúnmente conocido como extracto de quebracho (EQ), adicionados en la dieta de ovinos con diferentes niveles de proteína, concluyó que la inclusión de EQ en la dieta con bajos índices proteicos, llevó a la reducción de la infección por *T. columbriformis* basado en la reducción de conteo de HPG de corderos.

La reducción de HPG en animales que reciben fuentes de TC pueden ser consecuencia de la reducción de la carga parasitaria, o por la disminución de la fecundidad de las hembras (Martínez-Ortiz de Montellano y col., 2010; Minho y col., 2008). Según Hoste y col. (2006) los taninos pueden afectar los procesos biológicos de los nematodos dependiendo de dónde y cómo se ligan con varias estructuras de los nematodos tales como las vainas, cutículas, sistemas digestivos o reproductivo. La diferencia de la susceptibilidad de las larvas de *H. contortus* y *T. columbriformis* frente a los diferentes monómeros de TC puede estar relacionada a la especie de parásito, a la composición de la vaina y de la cutícula de los nematodos (Brunet y col., 2006). Los TC se ligan a las proteínas causando alteraciones en las propiedades físico-químicas; las mismas deben ser consideradas, especialmente porque las vainas y la cutícula de los nematodos son compuestas de prolina e hidroxiprolina (Fetterer y col., 1993).

Los parásitos de vida libre son limitados por una cutícula verdadera de material extracelular en forma de ligamentos cruzados de colágeno y proteína insolubles, son sintetizadas y secretadas por la hipodermis. La estructura puede ser relativamente simple o muy compleja, variando con el género parasitario, mostrando diferencias en la estructura dependiendo de la especie (Halton, 2004). La cutícula de los nematodos es metabólicamente activa y morfológicamente especializada para la absorción selectiva de nutrientes y osmoregulación.

Desde la década de los 70, la microscopia electrónica viene siendo utilizada como herramientas para el estudio de taxonomía y el efecto de los fármacos en cestodos y nematodos (Hoste y col., 2006) observando alteraciones en la superficie de la cutícula de *T. colubriformis*, con la presencia de arrugas transversales en los parásitos cuando contacta con los TC. Según otros autores, la capacidad de los TC de ligarse puede explicar las lesiones observadas en la cutícula por la microscopía electrónica de barrido.

Probióticos

Los probióticos son microorganismos vivos que, adicionados a la dieta, benefician a los animales hospedadores mejorando el equilibrio microbiano del tracto digestivo, estimulando ciertas cepas de bacterias a expensas de las menos deseables (McDonald., 2006). También, Laiho y col. (2002) define a los probióticos como suplementos alimentarios de microorganismos vivos o componentes derivados de éstos los cuales tienen un efecto beneficioso sobre la salud humana, lo que es extrapolable a la salud del resto de los animales. Si bien el término Probiótico aún

continúa siendo utilizado con frecuencia, el término implicaría una cierta naturaleza curativa, por lo que en Estados Unidos se utiliza un término más genérico, *direct feed microbials* (DFM), para describir a estos aditivos alimentarios microbianos.

Los microorganismos que constituyen los probióticos son principalmente bacterias capaces de producir ácido láctico, que son las más conocidas, pero también se incluyen bacterias no lácticas, levaduras y hongos. Los rumiantes son capaces de producir importantes cantidades de lactato y *Lactobacillus* en el retículo-rumen en condiciones de acidez (dietas en base a concentrado). Resulta así que uno de los puntos de mayor interés del empleo de probióticos en rumiantes es controlar la acumulación de lactato en el rumen, lo que se intenta conseguir por medio de la estimulación de los microorganismos utilizadores de lactato y estimuladores de la síntesis de propionato.

Los probióticos son sustancias o compuestos usados en la formulación de alimentos para animales, con el objeto de: complementar las necesidades nutricionales para mejorar la producción animal, en particular afectando la flora gastrointestinal o mejorando digestibilidad de otros ingredientes, afectan favorablemente las características de los ingredientes de la dieta, previenen o reducen el efecto dañino causado por la excreción de los animales mejorando el medio ambiente, además de crear condiciones favorables en el intestino delgado bajo el control o modulación de la población bacteriana de los animales para mejorar la digestión de los alimentos, mejoran el olor, sabor y la preservación de los alimentos para personas y animales. Los probióticos más utilizados para rumiantes son las levaduras vivas *Saccharomyces cerevisiae*. Las cepas de *S.cerevisiae*, vivas, han sido las más estudiadas y utilizadas en la alimentación de los rumiantes (Guedes y col., 2008). Estas levaduras son capaces de multiplicar en el rumen y brindar efectos beneficiosos sobre la flora celulolítica, en el crecimiento y productividad de su huésped (Wiedmeier y col., 1987). Según algunos autores, la adición de levaduras influenciaría en la fermentación y ayudaría al ecosistema ruminal a lidiar con el ambiente que generan por ejemplo dietas ricas en carbohidratos solubles que fermentan rápidamente (Desnoyers y col., 2009). A su vez, en nuestro país, Pérez-Ruchel y col. (2013) reportó que la inclusión de levadura a la dieta en corderos con acceso restringido a forraje, como único ingrediente de su dieta, aumentó considerablemente la digestión de la fibra a pesar de que el pH ruminal no se vió afectado por la restricción en el acceso al forraje respecto a los animales que tenían acceso continuo al mismo.

El mecanismo de acción específico de *S.cerevisiae* no está claramente definido, pero parecería ser que su principal acción sería su capacidad para consumir oxígeno dentro del rumen del animal. De esta manera, mejorarían las condiciones de anaerobiosis y, por ende, el crecimiento de la microbiota ruminal, en especial de aquellos microorganismos (m.o) que son más dependientes de la anaerobiosis, como son algunos de los m.o celulolíticos (como el *Fibrobacter succinogenes*) y consumidores de lactato (como *Selenomonas ruminantium* y *Megasphaera elsdenii*) (McDonald, 2006). Según Salminen (1996), la habilidad de adherirse a la mucosa intestinal es uno de los criterios más importantes para la selección de microorganismos probióticos ya que esta capacidad es considerada un requisito previo para la colonización.

El pH ruminal juega un rol fundamental en la regulación del ecosistema ruminal especialmente para los m.o sensibles a pH bajos como son las bacterias celulolíticas (Russell y col., 1996). De acuerdo a investigadores como Williams y col. (1991) las levaduras estabilizan el pH ruminal porque no permiten la acumulación de lactato en el rumen. El ácido láctico es un ácido orgánico, más fuerte que los ácidos grasos volátiles (AGV), producido principalmente por el *Streptococcus bovis*, y es el responsable de los cuadros de acidosis agudas. Por lo tanto, *S.cerevisiae* no sólo aumentaría la utilización de lactato, sino que también limitaría la cantidad que es producida. Aunque el ácido láctico no es usado como sustrato por las levaduras para crecer, los mecanismos por los que las levaduras disminuyen la concentración del mismo se pueden producir por el uso de un precursor del lactato por parte de las levaduras, la inhibición de la producción de lactato o por la estimulación del uso de lactato por parte de otros microorganismos (Fallon y col., 1987)

Williams y col. (1991) observaron que el consumo de MS de vacas Holando en lactación aumentaba en 1,2 kg por día al ser suplementadas con levaduras. En el mismo sentido, Carro y col. (1992), utilizando dietas ricas en concentrados, detectaron *in vitro* que la adición de *S.cerevisiae* aumentó la digestión de la MS y de la fibra neutro detergente FND. Esto también fue reportado por El-Waziry y col., (2007) trabajando con ovejas alimentadas con heno de leguminosas. Coincide con lo reportado por Pérez-Ruchel y col. (2013), quienes observaron un aumento en la digestión de la pared celular en ovinos alimentados exclusivamente con forrajes, consistente con el aumento de la actividad de la fermentación microbiana observado *in vitro*. Finalmente, investigadores como Desnoyers y col. (2009), realizando una revisión de 157 experimentos que evaluaron productos basados en *S.cerevisiae*, concluyeron que su uso redujo la concentración ruminal de ácido láctico, aumento el pH ruminal, la digestibilidad y consumo de la MS.

5-HIPOTESIS

El extracto de quebracho (EQ) y las levaduras presentan propiedades antihelmínticas que contribuyen a disminuir la carga parasitaria en ovinos en pastoreo

6-OBJETIVOS

6.1-Objetivo general:

Evaluar el efecto productivo y antihelmíntico de TC provenientes de quebracho y de *Saccharomyces cerevisiae* en corderos Merino Australiano pastoreando campo natural.

6.2-Objetivos particulares

6.2.1 Evaluar el efecto de TC provenientes de quebracho y de *Saccharomyces cerevisiae* sobre la carga parasitaria en corderos Merino Australiano en pastoreo en campo natural.

6.2.2 Evaluar el efecto de TC provenientes de quebracho y de *Saccharomyces cerevisiae* sobre la ganancia de peso vivo en corderos Merino Australiano en pastoreo en campo natural.

6.2.3 Evaluar la técnica de Famacha© junto con el (HPG) como método de elección en la dosificación antihelmíntica en corderos Merino Australiano en pastoreo en campo natural.

7-MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Lugar físico de desarrollo del ensayo

El ensayo de campo fue llevado a cabo en el establecimiento comercial Paso del Sauce, Ruta 4, km 117, Departamento de Artigas, Uruguay.

7.2 Diseño experimental

El experimento consistió en un diseño simple con tres tratamientos y tuvo una duración de 175 días (8 de enero al 1 de julio). Se utilizaron 3 potreros de campo natural con un área que osciló entre 30 ha y 40 ha (denominados Anacahuita, Brasilerero y Dos del medio) de acuerdo al Esquema 1.

Este diseño experimental no implicó ninguna actividad ni manipulación que comprometiera el bienestar de los animales utilizados. De todas maneras, se contó con el aval de la Comisión Honoraria de Experimentación Animal (CHEA-Facultad de Veterinaria, UdelaR).



Esquema 1: Diagrama de la distribución de los potreros por tratamiento

7.3 Animales

Se utilizaron 90 corderos machos destetados durante el otoño, de raza Merino Australiano, los cuales estaban naturalmente infectados con nematodos gastrointestinales con una carga parasitaria promedio inicial de aproximadamente de 600 HPG en las materias fecales. Los animales fueron asignados al azar a uno de 3 tratamientos (n= 30 por cada tratamiento).

La estimación del tamaño de la muestra fue realizada considerando que la distribución de los conteos de huevos de parásitos gastrointestinales no sigue una distribución normal y para el análisis estadístico generalmente se realiza una transformación logarítmica que es la que más se ajusta, y tiene un sentido lógico cuando se re-transforman los resultados (media geométrica o razón de conteos) obtenidos. Por lo tanto, para detectar un efecto del tratamiento en estudio, se tomaron los resultados obtenidos en un meta-análisis sobre tratamientos con TC en ovinos y donde las medias de los grupos controles y tratados y sus respectivas varianzas fueron transformados a logaritmo neperiano (Mederos y col., 2011). Se estimó 23 animales por grupo, más la adición de 7 por potenciales pérdidas de participantes o corrección por factores de confusión, entre otros.

Todos los animales contaron con agua *ad libitum* de aguada natural y sombrites artificiales en todas las parcelas.

7.4.-Tratamientos

Se plantearon 3 grupos experimentales:

- **Grupo Control:** Corderos alimentados con Campo natural (CN) y ración para corderos. Este grupo fue ubicado en el Potrero “anacahuita”.
- **Grupo Probiótico:** Corderos alimentados con CN (Potrero “brasileiro”), con ración para corderos, más el agregado de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*).
- **Grupo Tanino:** Corderos alimentados con CN (Potrero “dos del medio”), ración para corderos, con el agregado en el suplemento de extractos de Quebracho-castaño.

7.5-Suplementos evaluados

El producto utilizado fue un extracto natural de taninos de *Schinopsis balansae* (Quebracho), Bioquina de Porfenc SRL y distribuido en Uruguay por Nutral, Solapa. El extracto es un polvo de color pardo conteniendo 17-20% de taninos condensados según determinación en el Laboratorio de Nutrición Animal de la Universidad de Piracicaba (Brasil) y posteriormente en INIA Tacuarembó, Uruguay.

Todos los animales fueron suplementados con un mismo concentrado para corderos, al que se le adicionaron distintos aditivos según el tratamiento, al 1,0% de su PV en base fresca con este concentrado (con 20% de PB y 2,5 Mcal/ kg MS de energía metabolizable). El peso promedio al inicio del ensayo fue de 20 kg, por lo cual se les suministraron 200 gr de suplemento por animal/día. El mismo se fue ajustando a medida que los animales aumentaron el PV.

Los animales del Grupo Tanino recibieron la ración con extracto de quebracho concentración 1% en base seca de (Silvafeed® ByproByPro). De esta manera, cada animal recibió al inicio del experimento una dosis diaria de 340 mg de TC de quebracho por animal por día, aumentando gradualmente junto con el peso, siendo el consumo diario al final del experimento de 510 mg.

Los animales del tratamiento Probióticos (grupo Probiótico) recibieron la ración con el agregado de 3 g por animal por día de LEVUCELL®SC,CNCM I-1077 (Lallemand Animal Nutrition).

Los animales del Grupo Control recibieron la misma ración sin la adición de extractos de quebracho o probiótico.

La preparación de la ración con el agregado de extractos de quebracho o Probiótico fue realizada en la Cooperativa Agraria Limitada de Salto (CALSAL), Uruguay.

7.6-Suplementación:

La cantidad de suplemento administrado diariamente fue estimado en base al PV promedio de cada grupo y el mismo fue suministrado diariamente a las 9:00 horas, aproximadamente.

Cada vez que se suministró el suplemento se realizó lectura de comederos para evaluar rechazo del mismo y posibles problemas asociados al consumo de concentrado con el agregado de TC

7.7 Determinaciones

7.7.1 En la pastura

Tanto la disponibilidad, digestibilidad y el contenido de MS y PB de la pastura, fueron determinados al inicio del experimento y cada 30 días. Para la estimación de la masa forrajera se utilizó la técnica de doble muestreo (Haydock y Shaw, 1975). La misma se basa en la estimación visual de la cantidad de forraje en base a una escala de 5 puntos. El primer paso fue recorrer todo el sitio experimental a muestrear. En los sitios en que las especies forrajeras eran similares, se procedió a seleccionar el punto que representa la menor cantidad de forraje (por altura y densidad), a este se le llamó "punto 1". Luego se seleccionó el punto que representaba la mayor acumulación de forraje y se le llamo "punto 5". El cuarto paso fue seleccionar el punto intermedio al que se llamó "punto 3". Posteriormente se eligieron los puntos intermedios entre 1 y 3 ("punto 2") y entre 3 y 5 ("punto 4"). Pueden marcarse puntos intermedios entre 1 y 2 por ejemplo "punto 1.5", si la diferencia lo amerita. La identificación de la escala contenía: fecha de realizado, numero de escala, lugar de donde se tomó (establecimiento y potrero).

Una vez marcada la escala correspondiente se procedió a su descripción en: altura (cm), restos secos y suelo desnudo de cada uno de los cuadros. Dicha información se almacenó en una planilla específicamente diseñada. La altura del forraje se midió donde se concentró la mayor densidad del mismo y en 5 puntos del cuadro. El área de suelo desnudo se calificó por apreciación visual como porcentaje del cuadro (área). La cantidad de forraje total se dividió en relación verde/seco por apreciación visual.

La escala se dejó marcada y se procedió a recorrer el potrero en líneas paralelas a lo largo y parando cada 30 pasos (dentro de cada línea), se colocó el cuadro de 50x50 cm en la punta del zapato y se procedió a la lectura del cuadro en su

equivalencia con la escala marcada y los datos fueron registrados en la planilla. Frente a la duda del valor, se debió recurrir a la observación de la escala marcada. Los cuadros de referencia debieron ser observados periódicamente para refrescar la memoria. Luego de evaluada el área para cual fueron seleccionados los cuadros, se procedió al recorte del forraje.

Los cuadros elegidos como referencia para la estimación de masa forrajera fueron cortados a ras del suelo y de espalda al viento, con tijera de esquilar eléctrica y el material recogido en bolsa de nylon, acondicionado y en forma refrigerada fueron transportados al laboratorio.

En el laboratorio de Plantas Forrajeras de INIA Tacuarembó, los materiales fueron secados en estufa de aire forzado a 60° C por 48 horas para determinar el contenido de MS. Posteriormente, la muestra fue molida a 1 mm para análisis de proteína bruta (PB) bajo el método recomendado AOAC ID 955.04 (1990), y la fibra neutro detergente (FND) y fibra ácido detergente (FAD) con la técnica de ANKOM Technology Method usando los métodos propuestos por Van Soest y col. (1991), lo cual se realizó en el laboratorio de Nutrición Animal de INIA La Estanzuela. Los nutrientes digestibles totales en la pastura se calculó mediante la fórmula para estimar la misma a partir de la FAD, obtenida de la serie técnica N°142 de INIA (Acosta, 2004).

7.7.2 En los animales

Se realizaron determinaciones de PV cada 14 días hasta el final del período de evaluación, para las mismas fue utilizada una balanza electrónica (True Test-SR-3000), para pesaje de ovinos.

Al mismo momento, se realizó a todos los animales evaluación de la coloración de la mucosa ocular de acuerdo a la técnica de Famacha©. El mismo consta de una escala gráfica de la mucosa ocular, que establece cinco categorías. Las categorías 1 y 2 corresponden a las tonalidades más oscuras, son animales más saludables que no requieren desparasitación. La Categoría 3 se califica como punto intermedio. Queda a criterio del productor hacer o no la aplicación de vermífugo. Las categorías 4 y 5 son animales en estado anémico riesgoso severo.

El criterio que se definió para considerar a un animal en riesgo de estar parasitado fue definido cuando los niveles de HPG alcanzarán valores de 4000 o más y el grado de Famacha© fuese 4 o 5. La droga utilizada para el tratamiento fue determinada de acuerdo a los resultados del test de eficacia (Lombritest) y en la mayoría de las veces se utilizó como antiparasitario al Zolvix® (Monepantel) o Startec (Derquantel+Abamectina).

En el momento de pesar a los animales, se tomaron muestras de materia fecal en forma individual, las cuales fueron colocadas en bolsas de nylon, cerradas sin aire, identificadas y transportadas refrigeradas al laboratorio de Sanidad Animal de INIA Tacuarembó.

7.8. Análisis de la materia fecal

Con las muestras de materia fecal se realizaron las siguientes determinaciones:

- Conteo de huevos de NGI por HPG de cada animal individual, utilizando el método de mini-Flotac cuyo límite de detección es 10 HPGs.
- Cultivo de Larvas infectantes (L3) de un pool de las muestras de cada tratamiento, según técnica cuantitativa descrita por Henriksen y Korsholm (1983).

7.9. Análisis estadístico

Con los resultados obtenidos se confeccionaron las bases de datos correspondientes para realizar estadísticas descriptivas utilizando el software Stata 12. El logaritmo neperiano de HPG (lnHPG) se utilizó como variable de respuesta en un modelo lineal mixto ($P < 0.05$) y medidas repetidas (datos correlacionados tomados de un mismo animal en el tiempo), utilizando el procedimiento PROC MIXED de SAS System para Windows versión 9.4 TS Level 1M2 (SAS Institute Inc. Cary, NC, USA). Para las transformaciones logarítmicas, se le sumó 1 a los valores de HPG para evitar valores de "0". Las co-variables a nivel de animales fueron: tratamiento (Control, Probióticos, Taninos); Famacha (categorías: 1, 2, 3, 4 y 5); dosificación (Si o No) y peso vivo (kilogramos). Las co-variables a nivel de grupo fueron: muestreos (categórica de 1 a 11) masa forrajera (kg MS); PB de la pastura (%), *Haemonchus spp.* (% larvas infestantes), *Trichostrongylus spp.* (% larvas infestantes); temperatura ($^{\circ}\text{C}$) y precipitaciones (mm). La estructura de correlación utilizada fue la autoregresiva (AR1) para datos cuya correlación decrece con el tiempo. Los resultados obtenidos del análisis de datos en la escala logarítmica, cuando fueron re-transformados, se convirtieron en la mediana de HPG. Los datos resultantes de las comparaciones de medias en la escala logarítmica, al ser re-transformados se convirtieron en una "razón de conteo". Se consideraron diferencias significativas cuando $P < 0,05$.

8-RESULTADOS

En la figura 1 se observa la disponibilidad de la masa forrajera expresado en MS/ha en los diferentes meses. Se puede apreciar la mayor disponibilidad de forraje en los meses de invierno, y con una disponibilidad de enero a abril que oscila entre 500-1000 Kg/MS/ha.

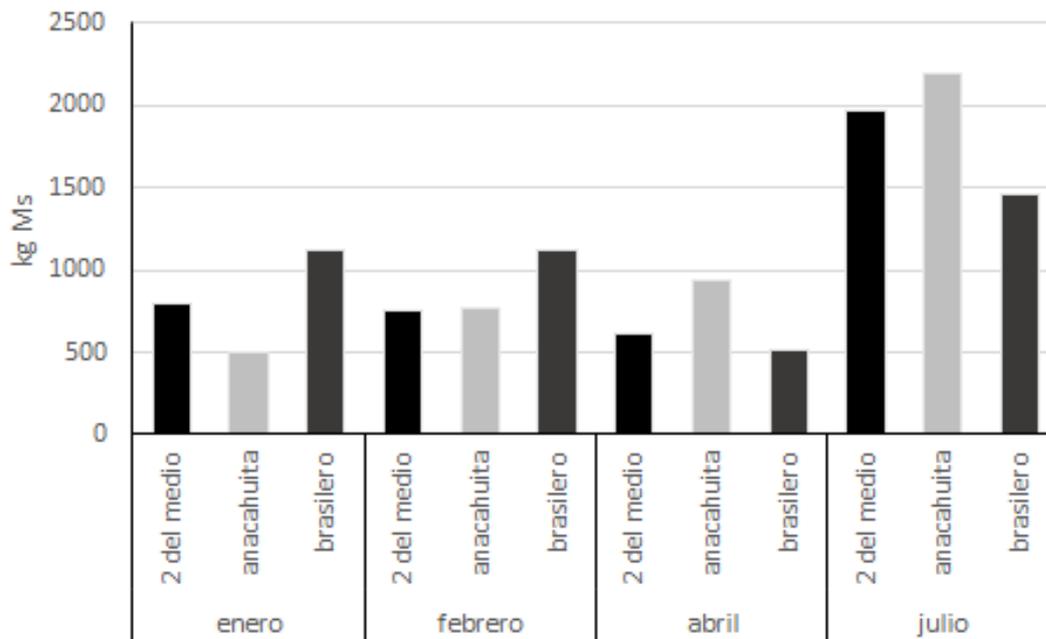


Figura 1. Disponibilidad de la masa forrajera en kg de MS/ha discriminado por potrero y por mes, durante el período experimental.

En la Tabla 1 se puede apreciar el porcentaje PB, FDA y FDN del forraje ofrecido, así como la digestibilidad de los nutrientes totales, discriminado por potrero y por fecha en la que fue realizado el muestreo.

Tabla 1. Resultados de los análisis de laboratorio de la pastura

Potrero	Fecha	%PB	%FDA	%FDN	%NDT
2 del medio	22/1/2016	8,5	39	62	58
Anacahuita	22/1/2016	9,2	38	62	59
Brasileño	22/1/2016	6,5	43	65	53
2 del medio	25/2/2016	6,9	44	62	52
Anacahuita	25/2/2016	9,7	37	65	60
Brasilero	25/2/2016	7,3	45	63	51
2 del medio	28/4/2016	14,9	34	57	64
Anacahuita	28/4/2016	11,2	39	60	58
Brasilero	28/4/2016	17,1	31	59	67
2 del medio	1/7/2016	8,5	44	62	52
Anacahuita	1/7/2016	7,8	45	61	51
Brasilero	1/7/2016	8,7	42	63	55

PB=Proteína Bruta. FDA= Fibra detergente acida. FDN= Fibra detergente neutra. NDT= nutrientes digestibles totales

En la Figura 2 se puede observar la evolución del PV a lo largo del período experimental. Al comienzo del experimento se registraron PV en promedio de 20 Kg, con un aumento sostenido hasta el final del experimento, culminando con 30 kg promedio en los 3 grupos, sin observarse diferencias significativas entre los tratamientos ($P>0,05$).

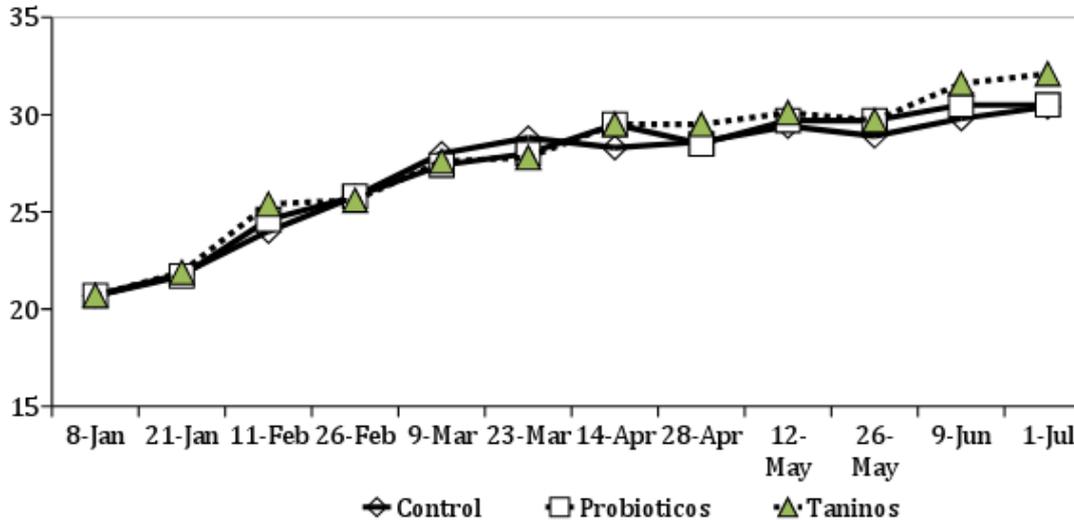


Figura 2. Evolución promedio del peso vivo (expresado en kg) de los animales de los 3 tratamientos, durante el período enero-junio 2016

En la Figura 3 se muestra el número de animales en cada categoría de Famacha© discriminado por tratamiento, observándose que en todo el período experimental se encontraron más animales con grados 2 y 3 de Famacha© respecto a los otros grados. En los grados 4 y 5 (de mayor riesgo) se observó un menor número de animales (5% de los registros), sobre todo los de los grupos Taninos (16) y Probióticos (10). En el grado 1, el grupo Taninos tuvo más animales(30) que el resto de los tratamientos, seguido por el grupo Probióticos (29), y el grupo Control (27).

Con respecto a Famacha, cuando se cambia de grado 1, 2 y 3 a 4, el riesgo de conteo de huevos aumenta 0,32, 0,32 y 0,39 respectivamente ($P<0,05$).

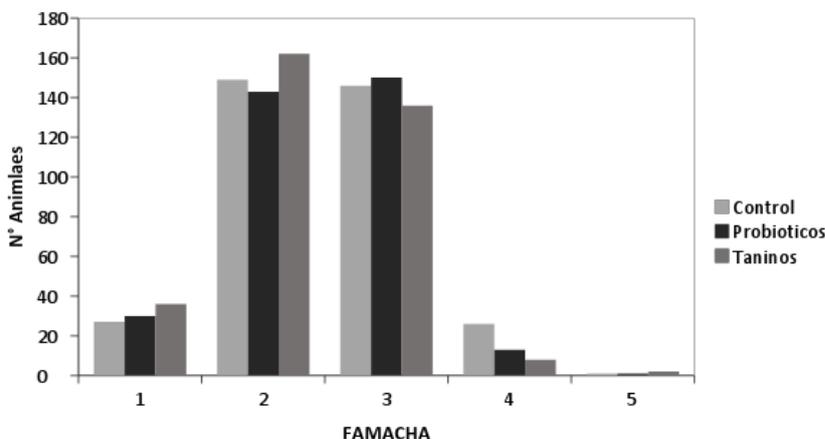


Figura 3. Número de animales en cada categoría de Famacha© discriminado por tratamiento y durante todo el período experimental.

En la Figura 4 se muestra la evolución de los conteos de HPG de los corderos de los tres tratamientos. Como se puede ver en dicha figura, existe una tendencia a menores promedios de HPG en los corderos de los tratamientos Taninos y Probióticos sobre todo en los meses de marzo y abril que es cuando *H. contortus* aumenta en las condiciones epidemiológicas de Uruguay. Durante el experimento no se observaron diferencias significativas entre tratamientos ($P>0,05$).

Las variables que mostraron una asociación significativa ($P<0,05$) con la evolución del lnHPG fueron dosificaciones, grado de Famacha®, temperatura y precipitaciones.

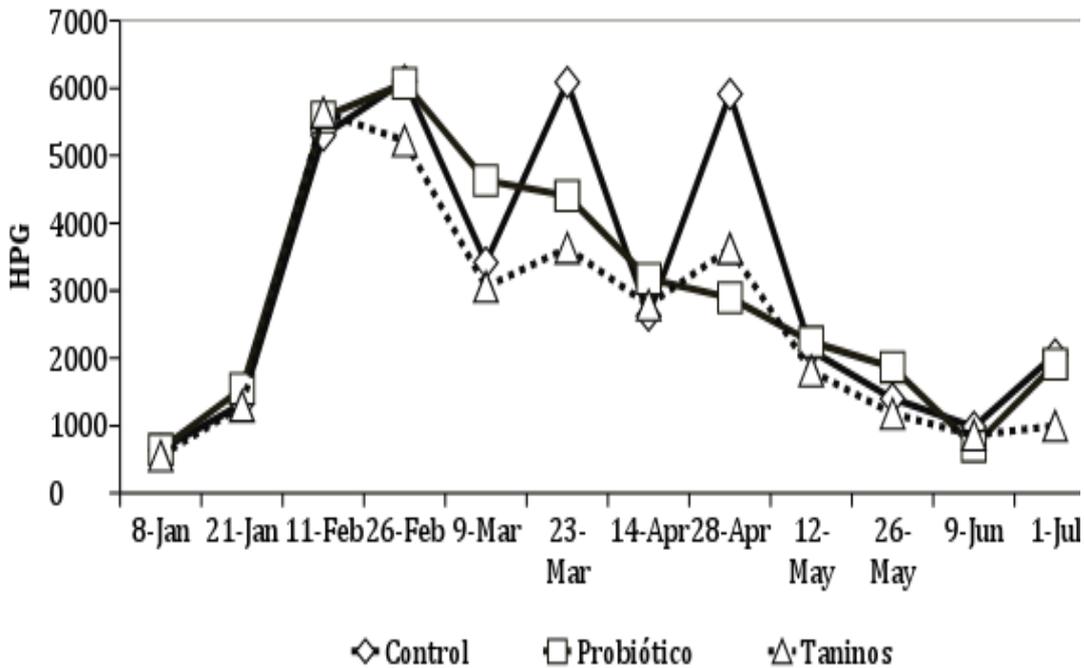


Figura 4. Evolución promedio de los conteos de huevos por gramo (HPG) de materia fecal de los corderos sometidos a los tres tratamientos, durante el período experimental (enero-junio 2016).

En la figura 5 se presenta el resultado de la evolución promedio de larvas infestantes (L3) de NGI resultantes de los coprocultivos. Como se puede ver en dicha figura, se observó una mayor presencia de los estados libres de *H. contourtus* en los meses más cálidos (febrero a abril), aumentando la presencia de *Trichostrongylus spp.* en los meses de invierno.

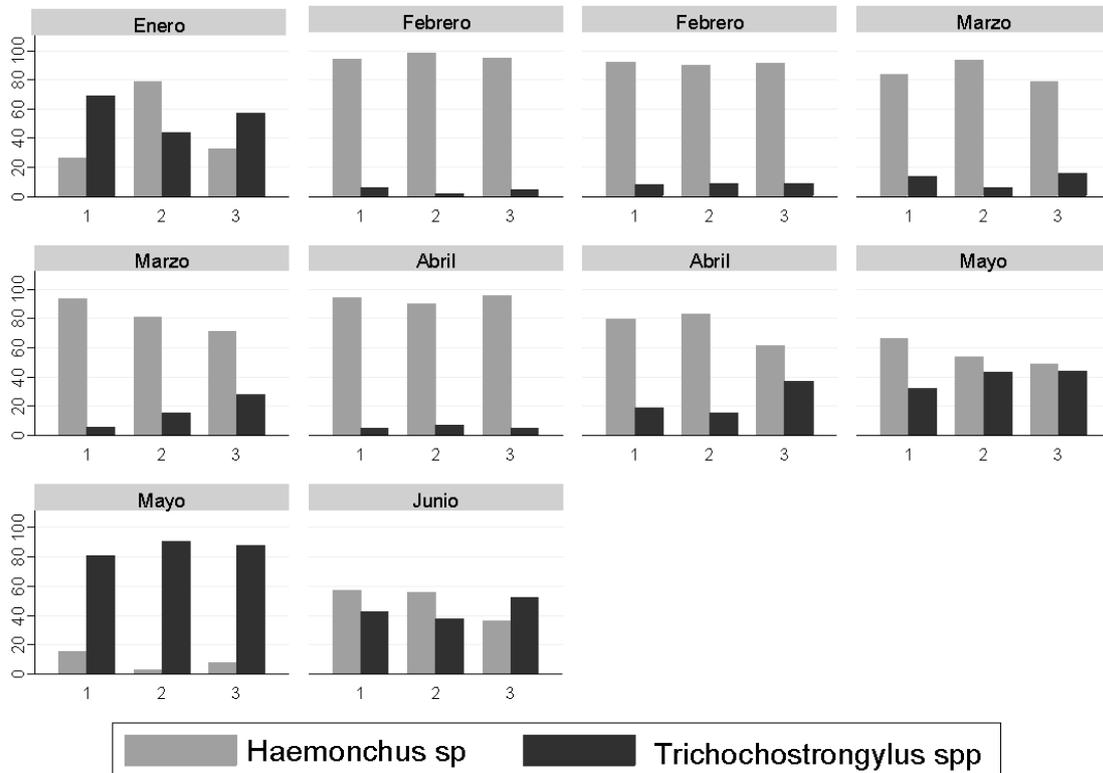


Figura 5. Resultados de los porcentajes promedio (eje de las Y) de larvas infestantes de *Haemonchus sp.* y *Trichostrongylus spp.*, para cada tratamiento y diferenciado por muestreo y por mes (eje de las X), durante el período enero-junio 2016. 1=Grupo Probiótico; 2=Grupo Control; 3=Grupo Tanino.

En la Tabla 2 se presentan los resultados del análisis de los promedios de los grados de Famacha© y HPG (junto con el desvío estándar y el número de observaciones) de todos los animales y durante todo el período experimental. Como se puede ver allí, existe una tendencia a medida que los grados de Famacha© aumentan (los animales se van volviendo más anémicos), los promedios de HPG también fueron aumentando, para todos los tratamientos. La excepción fue en el grupo Taninos, donde los promedios de HPG fueron menores en los animales con Famacha© 5, pero en este caso el número de animales observados fue muy bajo. Otro resultado que se destaca como relevante de la información presentada en la Tabla 2, es que el número de observaciones en los grados 4 y 5 de Famacha©, fueron muy bajos en comparación con los grados 1, 2 y 3.

Tabla 2. Promedios de huevos por gramos (HPG) agrupados por grado de Famacha© y para cada uno de los tratamientos durante todo el período experimental.

Famacha©	Control	Probiótico	Taninos	Total
1				
Prom.	1810	2700	1885	2136
D.E	1534	2380	2395	2169
n	27	29	30	86
2				
Prom.	2655	2605	2184	2476
D.E	3026	2680	2265	2675
n	146	134	149	429
3				
Prom.	2909	2860	149	2918
D.E	3679	3117	3059	3288
n	137	149	131	417
4				
Prom.	10241	7273	7015	8888
D.E	8859	6144	5645	7732
n	24	12	7	43
5				
Prom.	4630	15670	875	5512
D.E	0	0	374	7002
n	1	1	2	4
Total				
Prom.	3240	2943	2586	2928
D.E	4355	3226	2824	3548
n	335	325	319	979

Prom.=Promedio; D.E.=desvío estándar, n=número de observaciones

Durante todo el período experimental, se aplicaron 29 dosificaciones a los animales del grupo control, 16 a los animales del grupo Probiótico y 11 a los animales del grupo Taninos.

Cuando se agrupó por el número de dosificaciones recibidas por cada animal durante el período experimental hubo una reducción significativa en el número de dosificaciones en los animales del grupo Tanino y Probiótico con respecto al grupo Control (Figura 6). Hubo un mayor número de animales de los grupos Taninos y Probióticos que no recibieron dosificaciones en todo el período.

Cuando se analizó el número de dosificaciones, encontramos que los animales que debieron recibir un tratamiento antihelmíntico, presentaron HPG e índice de Famacha© (criterio definido para la dosificación) significativamente más elevados ($P=0,02$), respecto a los animales que no recibieron dosificación.

Los animales que debieron ser dosificados, tuvieron un riesgo de tener conteos de huevos 0,38 veces más elevados que aquellos animales que no debieron recibir dosificaciones.

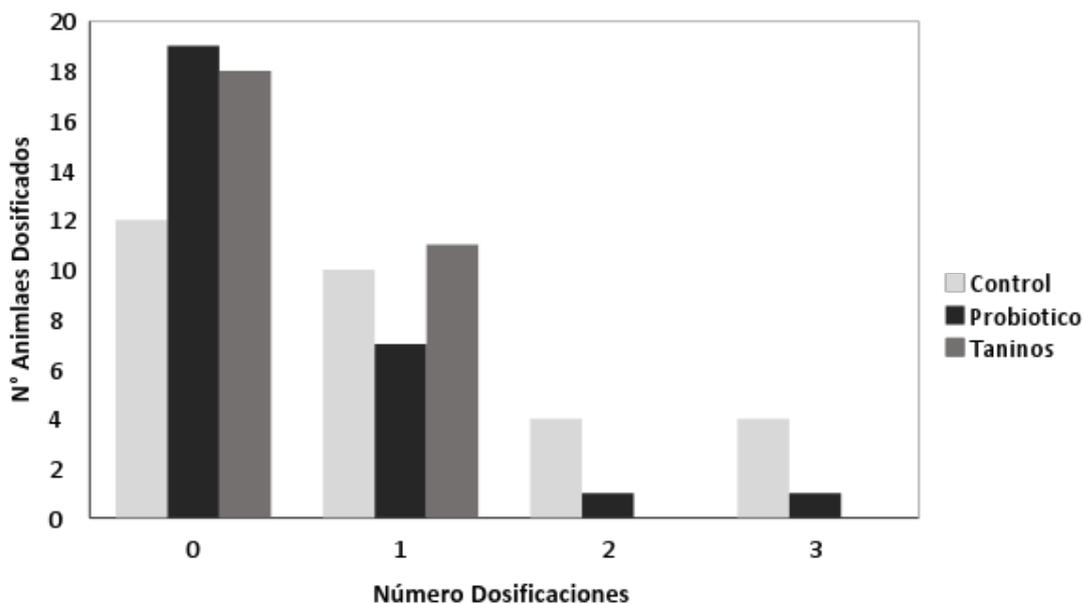


Figura 6 Número de dosificaciones recibidas por un mismo animal durante el período experimental discriminado por grupo experimental.

9-DISCUSIÓN

Según los datos obtenidos de pastura, en relación a la disponibilidad de masa forrajera se cuantificó mayores densidades en los meses de invierno debido a las lluvias copiosas en el mes de abril (600mm), citados por INIA-GRAS (2016). La disponibilidad al comienzo del ensayo hasta el mes de abril fue de entre 500 y 1000 Kg de MS/ha, los cuales coinciden con los datos de la bibliografía consulta en relación a suelos de basalto superficial, Castro y col. (1980) y Carámbula y col. (1978), citados por Crempien (2008).

En relación a la calidad de la pastura se observa que el porcentaje de proteína bruta de las pasturas se correlacionan con los datos obtenidos de la Guía para la nutrición de rumiantes de INIA (Mieres y col., 2004). En el mes de abril se obtuvieron datos muy elevados en relación a campo natural sobre suelo de basalto superficial, que no supimos relacionarlo.

Los datos de nutrientes digestibles totales de la pastura en estudio se obtuvo un promedio de los 3 potreros de 56,6%, el cual se presenta similar a lo expuesto por los autores Chiara y Zarza (1978), citado por Crempien (2008), para suelos de basalto superficial.

Si bien los valores de GPV se encuentran dentro de lo esperado en base a los estudios realizados por otros autores con corderos a campo natural con suplementación, el hecho de que no hayamos encontrado diferencias significativas para este parámetro entre los grupos Probióticos y Taninos con respecto al grupo Control, podría deberse a la baja calidad del forraje, sobre todo en términos de PB, aún cuando está demostrado que los corderos son selectivos a la hora de elegir su alimento, pudiendo seleccionar en base a sus requerimientos por encima de la oferta promedio del campo. Quizás para los niveles de ganancia de PV registrados (57,14 g/día) haya resultado más dificultoso detectar diferencias atribuibles a los probióticos y/o los taninos. Además, sabiendo que las levaduras generan mayor digestibilidad de la MS, y de la fibra, además de tender a disminuir el N eliminado en orina y a aumentar el N retenido por los animales (Chaucheyras-Durand y col., 2008), se esperaban mayores GPV en los animales del grupo Probiótico, aunque eso no se evidenció.

Si consideramos el supuesto efecto indirecto de los taninos sobre las proteínas de la dieta, que llevan a una mejora en la absorción intestinal de aminoácidos (Tanner y col., 1994), en este caso tampoco se vió reflejado en la GPV, quizás debido a las mismas razones por las cuales no se observó un efecto favorable de las levaduras.

También pudo haber influido en la ganancia de peso un menor consumo de MS debido al efecto de sustitución de la ración sobre el campo natural. Otra posible causa podría ser el efecto compensatorio que debieron cursar los animales debido a una cría deficiente.

En trabajos nacionales previos a éste, la aplicación de la técnica de Famacha®, generó resultados satisfactorios cuando el desafío parasitario fue medio a bajo, sin

embargo, cuando existieron condiciones favorables al desarrollo de *H. contortus*, la técnica no resultó tan efectiva, ocasionando mayores pérdidas productivas (Salles y col, 2001). Por lo que los mismos autores concluyeron que esta técnica parecería ser una buena herramienta para utilizar en casos puntuales y no en forma generalizada.

En nuestro experimento, la técnica de Famacha© permitió una reducción significativa en el número de dosificaciones, ya que solo se dosificaron aquellos animales de escala 4 y 5. Luego de aplicar estas dosificaciones se registró un menor número de animales con escalas altas de Famacha©. De 979 documentaciones de mucosa ocular realizadas durante el período, solo 4 (0,4%) fueron escala 5 y 43 (4,4%) de escala 4, lo que se observa una gran frecuencia en las escalas 1, 2 y 3. Por lo tanto, podemos decir que realizando un control integrado de los parásitos se lograría reducir el número de dosificaciones y, por ende, reducir la resistencia parasitaria y las pérdidas económicas.

Los corderos como categoría de mayor susceptibilidad frente a los parásitos gastrointestinales, desarrollan un aumento exponencial en las cargas parasitarias cuando son llevados a pastoreo post-destete. Esto coincide con lo observado en este trabajo durante el período enero-febrero.

La evolución en la dinámica de las larvas infestante de los principales nematodos de los corderos (*H. contortus* y *T. columbriformis*) a lo largo del período experimental, se comportó acorde a los estudios de Pereira y col. (2006), quienes concluyeron que en otoño *H. contortus* encuentra las mejores condiciones para su desarrollo y persistencia en el tiempo de sus formas libres y *T. columbriformis* se desarrolla en épocas más frías. En verano las formas libres de *H. contortus* se ven limitadas si el mismo cursa más seco que la media general, lo que no sucedió durante este período experimental, con precipitaciones por encima de la media esperada para la región durante el período enero-junio del 2016 (INIA-GRAS). En este experimento, durante los meses de mayo y junio se observó una reducción del HPG en los 3 grupos, lo que puede estar asociado al potencial biótico del parásito dominante de esa época, que es el *Trichostrongylus spp.* el cual es considerablemente menor que el del *H. contortus*. Según Fiel y col. (2011), se puede aceptar que los conteos de HPG se correlacionan razonablemente (en el orden del 70-75%) con la población de parásitos adultos durante el período que va del destete hasta que los animales superan el año de vida, pasado este límite, y dependiendo estrechamente de las condiciones nutricionales y del nivel de exposición a los parásitos, el desarrollo de la respuesta inmune comienza a afectar seriamente la oviposición y los conteos a perder confiabilidad y correlación (cayendo a niveles del 40%).

A pesar de que ocurrió una reducción de los HPG en los grupos Taninos y Probióticos en relación al grupo Control, la misma no fue significativa a lo largo de todo el periodo. De todas maneras, los animales de ambos grupos, tuvieron una performance productiva buena y recibieron menor número de dosificaciones en comparación con el grupo Control.

Además, en aquellos animales de los grupos Taninos y Probióticos que nunca fueron tratados durante el período de evaluación, pudo haber existido una mejora nutricional, desarrollando mejores niveles de hemoglobina en sangre (Famacha© 1 y

2) ya que en los HPG no se encontraron diferencias significativas que explican este menor número de dosificaciones para los grupos taninos y probióticos.

A pesar de que las mediciones se realizaron individualmente, los tratamientos con los diferentes aditivos se realizaron de forma grupal, lo que podría haber generado problemas al momento del consumo, explicados por la dominancia, frente de ataque de los comederos, adaptabilidad al sistema de alimentación de algunos animales, PV individual, comportamiento, entre otros. A partir de observaciones visuales durante el transcurso de este experimento, podemos afirmar que el agregado de taninos en la ración no habría generado rechazos de la misma por parte de los animales. Por lo tanto, podríamos decir que la dosis de taninos utilizada en este experimento no habría limitado el consumo de los animales debido su sabor o astringencia, lo que concuerda con lo reportado por Montossi y col. (1995).

Cabe resaltar que no se encontraron en la literatura trabajos experimentales nacionales similares a éste, realizados sobre campo natural. Por lo tanto, hasta donde nosotros sabemos, este es el único trabajo en el que se estudió a nivel de campo el efecto de los taninos y probióticos en la especie ovina.

Existen algunas publicaciones de INIA (Montossi, 1995) acerca del uso de distintos niveles de TC en animales alimentados con pasturas mejoradas con niveles medios de TC. En estos trabajos en general se reportó diferencias significativas y menores tanto en HPG como en parásitos adultos totales en aquellos corderos que pastorearon en mejoramientos conteniendo forrajes "bioactivos". Pero en base a los resultados encontrados en este trabajo sería interesante evaluar qué sucede cuando los corderos que son alimentados con campo natural son suplementados con distintos niveles de extractos, o bien en campos naturales con un mayor valor nutritivo respecto al observado en el presente trabajo.

10-CONCLUSIÓN

A partir de los datos obtenidos se concluye que la utilización de métodos alternativos como el uso de la técnica de Famacha®, el uso de taninos y probióticos en la dieta de corderos, tuvo efecto sobre el control parasitario, donde se observó menor número de dosificaciones con antihelmínticos a aquellos animales de los grupos Tanino y Probiótico y además una tendencia a menores conteos de HPG en los mismos grupos.

El uso de la técnica de FAMACHA en conjunto con el HPG, puede ser una estrategia viable para identificar animales parasitados y así poder realizar un uso más racional de las drogas antihelmínticas.

A nivel productivo no se obtuvo diferencias significativas entre los tratamientos, pero se obtuvieron ganancias de pesos buenas para las condiciones.

11-BIBLIOGRAFÍA

- 1) Acosta, Y (2004) Estimación del valor nutritivo para producción de leche. En: Mieres, J.M. Guía de alimentación de Rumiantes. INIA. Serie técnica N°142. pp: 69-78
- 2) Banchemo, G., Vázquez, A., Vera, M., Quintans, G. (2012) Adding condensed tannins to the diet increases ovulation rate in sheep. *Animal Production Science*; 52:853-856.
- 3) Barger, I.A. (1999) The role of epidemiological knowledge and grazing management for helminth control in small ruminant. *Int J Parasitol*; 29:41-47.
- 4) Barry T N, McNabb W C (1999) The Effect of Condensed Tannins in Temperate forages on Animal Nutrition and Productivity. Em Tannins in Livestock and Human Nutrition, p 30-35.
- 5) Barry T N, Manley T R (1984) The role condensed tannins in the nutritional value of *Lotus pedunculatus* for sheep. 2. Quantitative digestion of carbohydrates and proteins. *British Journal of Nutrition* 51:493-504.
- 6) Brunet, S.; Hoste, H. (2006) Monomers of condensed tannins affect the larval exsheathment of parasitic nematodes of ruminants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.54, p.7481-7487.
- 7) Butter N.L; Dawson J.M; Wakelin, D. and Buttery P.J (2000) Effect of dietary tannin and protein concentration on nematode infection (*Trichostrongylus Colubriformis*) in lambs. *Journal of Agriculture Science, Cambridge* 134: 89-99
- 8) Carámbula, H. (1978). Pasturas IV. Ministerio de Agricultura y Pesca. Centro de Investigación Agrícolas "Alberto Boerger", Montevideo, Uruguay. p5-7
- 9) Carro, M. D., P. Lebzien, K. Rohrl. (1992) *Animal Feed School Technology*. 37:209-220
- 10) Castells, D., Bonino, J. (2001). Evaluación del Moxidectin como dosificación estratégica del parto en ovinos. *Veterinaria* 36 (144-145) : 17-22
- 11) Castells, D.; Nari, A.; Risso, E.; Marmol, E. (1995) Efecto de los Nematodos gastrointestinales sobre diversos parámetros productivos del ovino en la etapa de recría. Año II 1991. *Producción Ovina* 8: 17-32.
- 12) Castro (1980) Primeras Jornadas Ganaderas de Basalto. U.E.P.D. Molles del Queguay. Estación Experimental del Norte. Ministerio de Agricultura y Pesca. Centro investigación Agrícolas "Alberto Boerger": 112p.
- 13) Chiara y Zarza (1978) Pasturas IV. Ministerio de Agricultura y Pesca. Centro investigación Agrícolas "Alberto Boerger": 175-192.

- 14) Chaucheyras-Durand, F.; Walker, N.D.; Bach, A. (2008) Effects of active dry yeasts on the rumen microbial ecosystem: Past, present and future. *Animal Feed Science Technology*; 145: 5–26.
- 15) Crempien, C. (2008) Antecedentes técnicos, metodología básica para utilizar en presupuestación en establecimientos ganaderos Montevideo, Ed. Hemisferio Sur, 72p.
- 16) Desnoyers, M., Ginger, S. Bertin, G. Duvaux, C., Sauvant, D. (2009) Meta-analysis of the influence of *Saccharomyces Cerevisiae* supplementation on ruminal parameters, and milk production on ruminants. *Journal of Dairy Science* 92: 1620-1632
- 17) El-Waziry A. Y Ibrahim, H. (2007) effect of *sacchoromyces cerevesiae* of yeast on fiber digestion on sheep feed berseem (*Trifolium Alexandrinum*) hay and cellulase activity. *Australian journal of basics and applied sciences* 1: 379-385.
- 18)-Fallon, R.J., Harle, F. (1987) The effect of yeast culture inclusion in the concentrate diet on calf performance. *Journal of Dairy Science*. 70: 2051-2062.
- 19) Fetterer, R. H.; Rhoads, M. L.(1993) Biochemistry of the nematode cuticle: relevance to parasitic nematodes of livestock. *Veterinary Parasitology*, 46 (1-4): 103-111
- 20) Fernandez Abella, D.; Castells, D.; Piaggio, L.; Deleon, N. (2006). Estudio de la mortalidad embrionaria y fetal en ovinos. I. Efecto de distintas cargas parasitarias y su interacción con la alimentación sobre las pérdidas embrionarias y fecundidad. *Producción Ovina* 18: 25-31.
- 21) Fiel C.; Nari A. (2013) Enfermedades parasitarias de importancia clínica y productiva en rumiantes. 2ª Ed. Montevideo, Hemisferio sur, 745p.
- 22) Fiel C.; Steffan P.; Ferreyra D. (2011) Manual de diagnóstico de las parasitosis. Disponible en:
www.aavld.org.ar/publicaciones/Manual%20Diagnostico%20final.pdf. Fecha de consulta: 05/06/2017
- 23) Gray, G., (1987). Genetic resistance to haemonchosis in sheep. *Parasitology Today*; 3: 253-255.
- 24) Guedes C.; Goncalves, D.; Rodrigues M.; Dias-da-Silva A. (2008) Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* yeast on ruminal fermentation and fibre degradation of maize silages in cows. *Animal Feed Science Technolgy*; 145: 27–40.
- 25) Halton, D. (2004) Microscopy and the helminth parasite. *Micron*. 35 (5): 361-390.
- 26) Haydock, K.P and Shaw, N.H, 1975. The comparative yield method for estimating dry matter yield of pasture. *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry*, 15: 663- 670.

- 27) Henriksen, F.; Korsholm, L. (1983) Diagnóstico de las parasitosis más frecuentes en rumiantes. Disponible en: <http://www.aavld.org/publicaciones/Manual%20Diagnostico%20final.pdf> Fecha de consulta: 13/8/2017
- 28) Hoste, H.; Jackson, F.; Athanasiadou, S.; Thamsborg, S.M.; Hoskin, S.O. (2006) The effects of tannin-rich plants on parasitic nematodes in ruminants. *Trends Parasitol*; 22:253-261.
- 29) Iglesias Achigar, M P, Ramos Etchemendy, N (2003) Efecto de los taninos condensados y la carga sobre la producción y calidad de carne y lana de corderos pesados Corriedale en cuatro especies de leguminosas (*Lotus corniculatus*, *Lotus pedunculatus*, *Lotus subbiflorus* y *Trifolium repens*). INIA Serie Técnica N° 217. Uruguay. p 453-454.
- 30) INIA-GRAS. (2016) Precipitación acumulada. Disponible en: www.inia.org.uy/gras/agroclima/Carlos_Pruebas/Gras/_Editar3.html?est=5. Fecha de consulta: 02/08/2017.
- 31) Laiho, K.; Hoppu, U.; Ouwehand, C.; Salminen, S.; Isolauri, E.(2002). Probiotics: ongoing research on atopic individuals. *Br J Nut*; 88:19-27.
- 32) Makkar, H. P. S.; Francis, G.; Becker, K. (2007) Bioactivity of phytochemicals in some lesser-know plants and their effects and potential applications in livestock and aquaculture production systems. *Animal*, 1 (9): 1371-1391.
- 33) Malan F., Bath G., van Wyk J. (2015). The FAMACHA@SYSTEM - back to nature's basics. Disponible en: https://docs.wixstatic.com/ugd/6ef604_d951912835354_5898f3_2b3134e1f87f4.pdf. Fecha de consulta: 04/10/2017.
- 34) Martínez-Ortíz de Montellano, C.; Vargas-Magaña, J.J.; Canul-Ku, H.; Miranda-Soberanis, R.; Capetillo-Leal, C.; Sandoval-Castro, C.; Hoste, H.; Torres-Acosta, J. (2010). Effect of a tropical tannin-rich plant *lysilomalatisiliquum* on adult populations of *Haemonchus contortus* in sheep. *Vet Parasitology*; 172: 283-290.
- 35) McDonalds P., Edwards, R. (2006). *Nutrición Animal*. 7ª ed. Zaragoza, Acribia. 587 p.
- 36) Mederos. A.; Carracelas B.; Lara S.; Pimental, S.; Banchemo, G. (2015) Situación actual de la resistencia a las drogas antihelmínticas en ovinos en Uruguay. Disponible en: <http://www.ainfo.inia.uy/digital/bitstream/item/5096/1/POSTER-2015-MEDEROS.pdf>. Fecha de consulta: 11/05/2017.
- 37) Mederos, A.; Banchemo, G.; Montossi, F.; Carracelas, B. (2012) Uso de extractos de taninos de quebracho (*Shinopsis* spp) en el control de parasitos gastrointestinales de los ovinos en pastoreo. INIA Serie Técnica N° 693. Uruguay .pp:12-20.
- 38) Mederos, A.; Montossi, F.; Cuadro, R.; Gallinal, M.; Rodriguez, S.; Risso, F.; De Barbieri, I. (2011). Effect of grazing a bioactive forage, in the control of

gastrointestinal nematodes in sheep, in Uruguay. 23rd. International Conference of the WAAVP, Buenos Aires, Argentina.

39) Mederos, A.; Montossi, F.; De Barbieri, I.; Cuadro R. (2004) Efecto de la utilización de la utilización de leguminosas con taninos condensados en el manejo integrado de los parásitos gastrointestinales en ovinos. Seminario de Actualización INIA: Parásitos gastrointestinales en ovinos y bovinos, Tacuarembó, Uruguay, p:11-19.

40) Mieres, J.M.; Assandri, L.; Cúneo, M. (2004). Tablas de valor nutritivo. En: Mieres, J.M. Guía de alimentación de Rumiantes. INIA. Serie técnica N°142. pp: 13-66.

41) Minho, A.P.; Bueno I.C.S.; Louvandini, H.; Jackson, F.; Gennari, S.M.; Abdalla, A.L. (2008). Effect of *Acacia molissima* tannin extract on the control of gastrointestinal parasites in sheep. *Animal Feed Science Technology*; 174:172-181.

42) Montossi, F. (1996) El valor nutricional de los taninos condensados en el género lotus. Producción y manejo de pasturas. Seminario técnico, 17-19 octubre 1995, INIA Serie Técnica; 80 p:107-111.

43) Montossi, F.(1994) Evaluación del efecto de los taninos condensados sobre la producción ovina. INIA Serie Técnica N°37 Actividades de Difusión., 27 de octubre, 1994. p. 33-39.

44) Nari, A.; Salles, J.; Gil, A.; Waller, P.J.; Hansen, J.W. (1996). The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in southern Latin America: Uruguay. *Vet Parasitol*; 62 p:213-222.

45) Niezen J H, Charleston W A G, Hodgson J, Mackay A D, Leathwick D M (1996) Controlling Internal Parasites In Grazing Ruminants Without recourse to anthelmintics: approaches, experiences and prospects. *International Journal for Parasitology*. 26 (8/9): 983-992.

46) Niezen J H, Waghorn T S, Charleston W A G, Waghorn C G (1995) Growth and gastrointestinal nematode parasitism in lambs grazing either Lucerne (*medicago sativa*) or sulla (*Hedysarum coronarium*) which contains condensed tannins. *Journal of Agriculture Science*. 125: 281-289.

47) Niezen J H, Waghorn T S, Waghorn C G, Charleston W A G (1993) Internal parasites and lamb production- a role for plants containing condensed tannins?. *Proceedings of the New Zealand Society of A.P.* 53: 235-238.

48) Official Methods of Analysis. 15^a ed. Arlington, AOAC International. (1990), 62p.

49) Oliveira, L.; Bevilaqua, C.; Macedo, I.; Morais, S.; Monteiro, M.; Campello, C.; Ribeiro, W.; Batista, E. (2011). Effect of six tropical tanniferous plant extracts on larval exsheathment of *haemonchus contortus*. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria*; 20: 155-160.

- 50) Paolini V, A Frayssines, F De La Farge, F Dorchie, H Hoste. (2003). Effects of condensed tannins on established populations and on incoming larvae of *Trichostrongylus colubriformis* and *Teladorsagia circumcincta* in goats. *Vet Res* 34:1-9.
- 51) Pereira D, Castells D, Deschenaux H. (2006). Infectividad de campo natural contaminado con huevos de *Haemonchus contortus* en cuatro estaciones del año. XIV° Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, Uruguay p: 61-65.
- 52) Pérez-Ruchel A., Repetto J.L., Cajarville C. (2013) Suitability of live yeast addition to alleviate the adverse effects due to the restriction of the time of access to feed in sheep fed only pasture. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition (Berl)* 97(6): 1043-1050.
- 53) Ray M. Kaplan (2015) How and why resistance to worm remedies develops. 6p.
- 54) Russell JB, DB Wilson. (1996). Why are ruminal cellulolytic bacteria unable to digest cellulose at low pH? *Journal of Dairy Science* 79:1503-1509.
- 55) Salminen, S., E. Isolauri, E. Salminen. (1996). Probiotics and stabilisation of the gut mucosal barrier. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition.*, 5: 53-56.
- 56) Tanner, G.; Moore, A., Larkin, P.J. (1994) Proanthocyanidins inhibit hydrolysis of leaf proteins by rumen microflora in vitro. *British Journal of Nutrition*; 71: 47-56.
- 57) Thamsborg, S.; Roepstorff, A.; Larsen, M. (1999) Integrated and biological control of parasites in organic and conventional production systems. *Vet Parasitol*; 84: 169-186.
- 58) Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A. (1991) Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J Dairy Sci*; 74: 3583-3597.
- 59) Van Houtert, M.; Barger, I.; Steel, J.; Windon, R.; Emery, D. (1995). Effects of dietary protein intake on responses of young sheep to infection with *trichostrongylus colubriformis*. *Vet Parasitol*; 56: 163-180.
- 60) Waghorn C G, Shelton I D (1997). Effect of condensed tannins in *Lotus corniculatus* on the nutritive value of pasture for sheep. *Journal of Agricultural Science, (Cambridge)*, 128: 365-372.
- 61) Wiedmeier, R.D., M.J. Arambel, J.L. Walters. (1987). Effect of yeast culture and *Aspergillus oryzae* fermentation extract on ruminal characteristics and nutrient digestibility. *Journal of Dairy Science*. 70: 2063–2068.
- 62) Williams, E. V. (1991). New Development in nutrition for growth enhancement. *The Pig Journal.*, 27: 75-91.