

Universidad Autónoma de Sinaloa
Colegio en Ciencias Agropecuarias
Doctorado en Ciencias Agropecuarias



TESIS:

“Influencia de la adición *in vitro* de antihelmínticos no convencionales en la viabilidad de larvas y adultos de *Haemonchus contortus*”

**Que para obtener el grado de Doctora en
Ciencias Agropecuarias**

Presenta:

MC. Melissa Belem Corona Palazuelos

Director de Tesis:

Dr. Rubén Barajas Cruz

Co-Directora de Tesis:

Dra. Soila Maribel Gaxiola Camacho

Asesores:

Dr. Javier Alonso Romo Rubio
Dr. Miguel Ángel Rodríguez Gaxiola
Dr. Carlos Vladimir López Aispuro

Culiacán, Sinaloa a 08 de Marzo de 2021.

ESTA TESIS FUE REALIZADA POR **MELISSA BELEM CORONA PALAZUELOS**, BAJO LA DIRECCIÓN DEL CONSEJO PARTICULAR QUE SE INDICA, Y HA SIDO APROBADA POR EL MISMO, COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTORA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

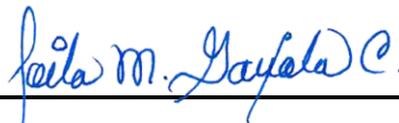
CONSEJO PARTICULAR

Director De Tesis



Dr. Rubén Barajas Cruz

Co-Directora De Tesis



Dra. Soila Maribel Gaxiola Camacho

Asesor



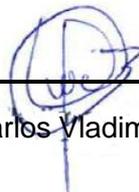
Dr. Javier Alonso Romo Rubio

Asesor



Dr. Miguel Ángel Rodríguez Gaxiola

Asesor



Dr. Carlos Vladimir López Aispuro

CULIACÁN, SINALOA, A 08 DE MARZO DEL 2021.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA

COLEGIO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
FACULTAD DE AGRONOMÍA CULIACÁN
FACULTAD DE AGRONOMÍA VALLE DEL FUERTE
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR
FACULTAD DE AGRONOMÍA VALLE DEL CARRIZO

En la Ciudad de Culiacán Rosales, Sinaloa, el día 17 de Marzo del año 2021, la que suscribe Melissa Belem Corona Palazuelos, alumna del Programa de Doctorado en Ciencias Agropecuarias, con número de cuenta 07259867, de la Unidad Académica Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, del Colegio de Ciencias Agropecuarias de la UAS, manifiesta que es autora intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección del Dr. Rubén Barajas Cruz y de la Dra. Soila Maribel Gaxiola Camacho y cede los derechos del trabajo titulado “Influencia de la adición *in vitro* de antihelmínticos no convencionales en la viabilidad de larvas y adultos de *Haemonchus contortus*”, a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, del Colegio de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Sinaloa, para su difusión, con fines académicos y de investigación por medios impresos y digitales, todo esto en apego al artículo 27 de la Ley Federal de Derechos de Autor.

La Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México) protege el contenido de la presente tesis. Los usuarios de la información contenida en ella deberán citar obligatoriamente la tesis como fuente, dónde la obtuvo y mencionar al autor intelectual. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ATENTAMENTE

melissa corona
Melissa Belem Corona Palazuelos

CORREO ELECTRÓNICO: corona_melissa@hotmail.com
CURP: COPM891219MSLRL07



UAS- Dirección General de Bibliotecas

Repositorio Institucional

Restricciones de uso

Todo el material contenido en la presente tesis está protegido por la Ley Federal de Derechos de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

Queda prohibido la reproducción parcial o total de esta tesis. El uso de imágenes, tablas, gráficas, texto y demás material que sea objeto de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente correctamente mencionando al o los autores del presente estudio empírico. Cualquier uso distinto, como el lucro, reproducción, edición o modificación sin autorización expresa de quienes gozan de la propiedad intelectual, será perseguido y sancionado por el Instituto Nacional de Derechos de Autor.



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-No Comercial-Compartir Igual, 4.0 Internacional.

DEDICATORIA

A mis padres, Jorge Eduardo Corona Burgueño y María del Rosario Palazuelos Angulo, porque han sido mi mayor orgullo y apoyo incondicional a lo largo de toda mi vida y por siempre estar a mi lado en las buenas y en las malas, por darme su amor y por siempre ayudarme a salir adelante a pesar de cada obstáculo que se me presentaba en la vida.

A mi director de tesis, el Dr. Rubén Barajas Cruz, quien ha sido una de las personas más importantes en esta etapa de mi vida, dedicándome su valioso tiempo, su confianza, amistad, profesionalismo y apoyo incondicional para mi formación académica.

A mi Co-directora de tesis, la Dra. Soila Maribel Gaxiola Camacho, quien me ofreció su apoyo incondicional para salir adelante a pesar de todas las circunstancias en las que me encontraba; por creer en mí y ayudarme a culminar esta etapa de mi vida tan importante, que no hubiera sido posible sin su gran ayuda. Muchas gracias Dra. Soila.

A dios, por brindarme esta oportunidad y permitirme terminar mis estudios satisfactoriamente.

A mi mejor amiga Eva Xitlalic Murillo Ayala, quien ha sido de gran importancia en esta etapa de mi vida, por apoyarme y siempre estar a mi lado cuando más la necesitaba, por estos 12 años de amistad que me ha brindado y por compartir conmigo tantos bellos y malos momentos, que a pesar de todo nos ha mantenido siempre juntas.

AGRADECIMIENTOS

A mis maestros, por su valiosa dedicación y por compartir conmigo todos sus conocimientos y motivarme a seguir estudiando.

A todos mis compañeros, amigos, familiares y a todas las personas que han estado conmigo a lo largo de todos estos años y me han brindado su apoyo incondicional y de manera personal este tiempo que fue muy importante para mí.

A todas las personas que me ayudaron y estuvieron siempre a mi lado para lograr la culminación de mis estudios de Doctorado en Ciencias Agropecuarias

Al equipo de trabajo del Laboratorio de Parasitología, en especial a la MC. Nohemí Castro del Campo y al MVZ. Jesús Daniel Solís Carrasco, por la ayuda y el apoyo brindado para realizar mi trabajo de tesis.

A la Universidad Autónoma de Sinaloa y al Colegio de Ciencias Agropecuarias, por toda la ayuda brindada para mi superación académica. Por siempre creer en mí abriéndome las puertas y nunca cerrándome las oportunidades que se me presentaban y por impulsarme a ser mejor persona y profesionista cada día.

A La Ganadera Los Migueles, por brindarme su apoyo y realizar parte de mis experimentos en su unidad experimental.

A CONACYT, por el apoyo brindado durante estos cuatros años en los que realice mis estudios de Doctorado.

CONTENIDO

INDICE DE CUADROS.....	i
INDICE DE FIGURAS.....	ii
RESUMEN.....	iii
ABSTRACT.....	iv
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISION DE LITERATURA.....	2
2.1. Parasitosis en Bovinos.....	2
2.2. Patogenia y Signos Clínicos.....	2
2.3. Métodos de control de nematodos gastrointestinales.....	3
2.2.1 .Antihelmínticos Convencionales.....	3
2.2.2. Métodos No Convencionales.....	3
2.2.2.1. Plantas.....	4
2.2.2.2. Control Biológico.....	4
2.2.2.3. Inmunización con Vacunas.....	6
2.2.2.4. Agujas de Cobre.....	6
2.4. Resistencia antihelmíntica.....	7
2.5. Diagnóstico de Nematodos Gastrointestinales.....	8
2.6. Nematodos.....	9
2.6.1. Haemonchus sp.....	10
2.7. Fitoterapia.....	11
2.7.1. Características de la fitoterapia.....	12
2.7.2. Historia de la fitoterapia	13
2.8. Metabolitos Secundarios de las Plantas.....	15
2.9. Generalidades de <i>Macleaya cordata</i>	15

III. MATERIAL Y MÉTODOS.....	15
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	21
VII. CONCLUSIONES.....	21
VIII. LITERATURA CITADA.....	27

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO	TÍTULO	PÁGINA
Cuadro 1.	Composición de la dieta basal ofrecida a los becerros durante el experimento.	17
Cuadro 2.	Influencia de la preparación de plantas de <i>Papaveraceae</i> (MCEP) sobre la presencia de huevos de nemátodos en las heces de becerros alimentados con una dieta en crecimiento basada en ensilaje de maíz	22
Cuadro 3.	Efecto del nivel de preparación de plantas de <i>Papaveraceae</i> (MCEP) después de 72 h de exposición sobre la mortalidad de L ₃ de <i>Haemonchus contortus</i> .	24
Cuadro 4.	Influencia del nivel de preparación de plantas de <i>Papaveraceae</i> (Sangrovit WS) y tiempo de exposición de la mortalidad in vitro en adultos <i>Haemonchus contortus</i> expresada como porcentaje.	25

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA	TÍTULO	PÁGINA
Figura 1.	Gráfico de mortalidad de L ₃ de <i>Haemonchus contortus</i> expuesto durante 72 h a diferentes niveles del preparado vegetal <i>Papaveraceae</i> y cálculo de la dosis letal media.	17
Figura 2.	Imágenes superior izquierda y derecha, correspondientes al Control de L ₃ de <i>H. contortus</i> después de 48 horas en agua destilada. En la foto inferior (izquierda y derecha) hay imágenes de L ₃ después de 48 horas expuestas a 7.5 mg/dL de preparación de plantas de <i>Papaveraceae</i> .	22
Figura 3.	Representación gráfica de la mortalidad <i>in vitro</i> de adultos de <i>Haemonchus contortus</i> (expresada como porcentaje) después de seis horas de exposición a diferentes niveles de inclusión de la preparación de plantas de <i>Papaveraceae</i> en la solución y cálculo de la dosis letal media.	24
Figura 4.	Las imágenes superiores, izquierda y derecha, correspondientes a la microfotografía de adultos de <i>H. contortus</i> después de 18 horas en solución acuosa (Control); en las fotografías del medio (izquierda y derecha) se muestran adultos después de 6 horas expuestos a 11.25 mg/dL de la preparación de plantas de <i>Papaveraceae</i> ; y las fotos de abajo (izquierda y derecha) correspondientes a adultos después de 6 horas de exposición a una dosis equivalente a 25 mg/dL del preparado vegetal <i>Papaveraceae</i> .	25

RESUMEN

Influencia de la adición *in vitro* de antihelmínticos no convencionales en la viabilidad de larvas y adultos de *Haemonchus contortus*

Melissa Belem Corona Palazuelos

El nematodo *Haemonchus contortus* tiene una amplia distribución mundial y es reconocido como el parásito gastrointestinal chupador de sangre más importante de los rumiantes domésticos. Además, *H. contortus* exhibe con frecuencia resistencia a los antihelmínticos obtenidos de la industria de síntesis química. Entonces, se vuelve de interés para académicos y agricultores encontrar sustancias alternativas que puedan contribuir a disminuir el impacto negativo de *H. contortus* en la producción de rumiantes domésticos. Esta investigación se llevó a cabo con el objetivo de explorar la actividad antihelmíntica *in vitro* e *in vivo* de una preparación vegetal de *papaveraceae* estabilizada de *M. cordata* contra el parásito nemátodo chupador de sangre de los rumiantes *H. contortus*, se realizaron tres experimentos. Exp. 1. Involucró 20 becerros recién llegados al corral de engorde, los cuales fueron infectados naturalmente con varios nemátodos, incluido *Haemonchus* spp. Fueron asignados al azar para ser alimentados con 10 g/día de una preparación de planta de *Papaveraceae* de *M. cordata* (MCEP) durante 28 días, y luego se contabilizó la eliminación fecal de huevos de parásitos. Exp.2. Larvas en estadio 3 de *Haemonchus contortus* fueron expuestas a diferentes concentraciones de soluciones de MCEP (0, 2.5, 5, 7.5 y 10 mg/mL) durante 24, 48 y 72 h, se determinó la mortalidad y se calculó la DL₅₀. Exp. 3. Adultos de *Haemonchus contortus* obtenidos del rumen de borregos fueron expuestos a diferentes concentraciones de soluciones de MCEP (0, 3.75, 7.5, 11.25, 15.0, 25.0 y 50.0 mg/mL) durante 2, 4, 6 y 24 h, se determinó la mortalidad y se calculó LD₅₀. Además, se exploraron L₃ y adultos en busca de daños físicos utilizando tanto microscopios ópticos como microscopía electrónica de barrido. En el Exp 1, la alimentación con 10 g de MCEP durante 28 días disminuyó (75% de *Haemonchus* sp, huevos por gramo de heces ($P < 0.05$) y *Cooperia* sp ($P = 0.03$). En Exp 2, Después de 72 h, la mortalidad alcanzó 100 % con la dosis de 10 mg/mL, la dosis letal media del preparado vegetal de *M. cordata* para L₃ de *H. contortus* se calculó en 6.3 mg/mL. En Exp 3, a las 6 h de tiempo de exposición, para los adultos de *H. contortus* LD₅₀ se calculó en 12.6 mg/mL. La microscopía indicó un fuerte daño estructural a la cutícula tanto en L₃ como en adultos de *H. contortus*. Los resultados del estudio actual sugieren que el uso de preparación de plantas de *Papaveraceae*, podrían contribuir a disminuir el impacto negativo de *H. contortus* en rumiantes, disminuyendo la eliminación de huevos fecales, aparentemente debido a que induce un daño extenso tanto en larvas como en formas adultas del parásito chupador de sangre *H. contortus*.

Palabras Claves: *Haemonchus* sp, Planta *Papaveraceae*, Eliminación de huevos, Mortalidad de larvas

ABSTRACT

Influence of the *in vitro* addition of unconventional anthelmintics on the viability of larvae and adults of *Haemonchus contortus*

Melissa Belem Corona Palazuelos

The nematode *Haemonchus contortus* have world wide distribution and is recognized as the most important blood suckling gastrointestinal parasite of domestic ruminants, in addition, *H. contortus* frequently exhibits resistance to anthelmintic obtained from chemical synthesis industry. Then, becomes of interest for academics and farmers find alternative substances that could contribute to decrease the negative impact of *H. contortus* on domestic ruminant production. This research was conducted with the aims of explore the *in vitro* and *in vivo* anthelmintic activity of a stabilized *Papaveraceae* plant preparation from *M. cordata* against the blood-sucking nematode parasite of ruminants *H. contortus*, three experiment were conducted. Exp. 1 involved 20 bull calves just arrived to feedlot, and naturally infected with several nematodes including *Haemonchus* spp. They were randomly assigned to be feed or not with 10 g/day of a *Papaveraceae* plant preparation from *M. cordata* (MCEP) during 28 days, and then fecal shedding of parasites eggs were accounted. Exp. 2 stage-3 larvae of *Haemonchus contortus* were exposed to different concentrations of MCEP solutions (0, 2.5, 5, 7.5, and 10 mg/mL) during 24, 48 or 72 h, mortality was determined and LD₅₀ calculated. Exp. 3 adults of *Haemonchus contortus* obtained from rumen of sheep were exposed to different concentrations of MCEP solutions (0, 3.75, 7.5, 11.25, 15.0, 25.0 and 50.0 mg/mL) during 2, 4, 6 or 24 h, mortality was determined and LD₅₀ calculated. Additionally, L₃ and adults were explored for physical damage using both light microscopies as scanning electronic microscopy. In Exp 1, Feeding 10 g of MCEP during 28 days decreased (75% *Haemonchus* sp, eggs per gram of feces ($P < 0.05$) and *Cooperia* sp ($P = 0.03$). In Exp 2, After 72 h, the mortality reached 100% with the dose of 10 mg/mL, the medium lethal dose of *M. cordata* e plant preparation for *H. contortus* L₃ was calculated as 6.3 mg/mL. In Exp 3, at 6 h exposition time, for adults of *H. contortus* the Lethal Dose-50 was calculate in 12.6 mg/mL. Microscopy indicate strong structural damage to cuticle both in L₃ as in adults of *H. contortus*. Results of actual study suggest the use of *Papaveraceae* plant preparation, could contribute to decrease the negative impact of *H. contortus* in ruminants, decreasing fecal egg shedding, apparently due to induces an extensive damage both in larvae as in adult forms of the blood suckling parasite *H. contortus*.

Key words: *Haemonchus* sp, *Papaveraceae*-plant, Eggs shedding, Larvae-mortality

I.INTRODUCCIÓN

Los parásitos gastrointestinales disminuyen el rendimiento y afectan el bienestar animal en la producción de rumiantes en pastoreo (Assefa *et al.*, 2017); entre ellos, *Haemonchus contortus* es el parásito nemátodo más frecuente de los rumiantes en las regiones tropicales y templadas (Chagas *et al.*, 2013; Kamaraj y Rahuman, 2011). Este parásito afecta la salud y la producción animal, deteriorando la calidad de vida de los animales y provocando pérdidas económicas considerables (Waller y Chandrawathani, 2005; de Cezaro *et al.*, 2016). En realidad, el control de los parásitos helmintos basado en el uso de drogas sintéticas es un método común en la ganadería. Sin embargo, la resistencia a los fármacos de uso actual (Gasbarre *et al.*, 2009; Chagas *et al.*, 2013) además de la toxicidad, los largos tiempos de abstinencia y la contaminación ambiental provocada por los desechos químicos, implica la necesidad de realizar investigaciones en busca de nuevas alternativas para controlarlos (Torres *et al.*, 2003; Van den Brom *et al.*, 2015). Se ha propuesto como alternativa plantas ricas en metabolitos secundarios considerando que las plantas producen este tipo de sustancias como defensa contra el ataque de animales y microbios (Kosina *et al.*, 2010; Kamaraj y Rahuman, 2011; Engstrom *et al.*, 2016), y es posible pensar que esos productos pueden tener actividad contra algún organismo que parasita a los animales de pastoreo. *Macleaya cordata*, es una planta de la familia *Papaveraceae* con una historia antigua de uso en la medicina tradicional china a base de hierbas y ampliamente estudiada debido a sus propiedades anti-cancerígenas y anti-inflamatorias (Kosina *et al.*, 2010). Esta planta presenta varios productos del metabolismo secundario que cuentan alrededor de treinta alcaloides de isoquinolina (Lei *et al.*, 2015), incluyendo queleritrina, dihidroqueleritrina, sanguinarina, dihidrosanguinarina, oxysanguinarina, sanguidimerina, quelidimerina, berberina, coptisina, alocriptopina (Ming *et al.*, 2010; Lei *et al.*, 2015). Además, los fenoles, otros compuestos bioactivos reportados en *M. cordata* son los ácidos gálico, protocatechico, hidroxibenzoico, mhidroxibenzoico, gentisico, p-cumárico, cafeico, ferúlico y

sinápico (Kosina *et al.*, 2010). La sanguinarina extraída de *M. cordata* redujo en un 97% la presencia de *Ichthyophthirius multifiliis*, un parásito ciliado del pez carpa (Yao *et al.*, 2010). Cuatro alcaloides extraídos de partes aéreas de *M. cordata* (sanguinarina, queleritrina, protopina y alocriptopina) mostraron un efecto tóxico *in vitro* contra tres nemátodos de plantas-parásitos seleccionados (Wang *et al.*, 2012). El extracto obtenido de cinco plantas diferentes que contiene una mezcla de alcaloides, fenoles, terpenoides y esteroides disminuyó la viabilidad *in vitro* de huevos y larvas de *H. contortus* (Kamaraj y Rahuman, 2011). Además, recientemente, en dos experimentos independientes, un extracto vegetal rico en fenoles tuvo efecto antihelmíntico tanto *in vivo* como *in vitro* contra *H. contortus* (Corona-Palazuelos *et al.*, 2016; Acevedo-Ramírez, *et al.*, 2019). Sobre la base de lo expuesto anteriormente, surge la hipótesis de que una preparación de planta de *Papaveraceae* de *M. cordata* puede tener actividad antihelmíntica frente a *H. contortus*. Esta investigación se llevó a cabo con el objetivo de explorar la actividad antihelmíntica *in vitro* e *in vivo* de una preparación vegetal de *papaveraceae* estabilizada de *M. cordata* contra el parásito nemátodo chupador de sangre de los rumiantes *H. contortus*.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Parasitosis en bovinos

Los parásitos gastrointestinales causan pérdidas económicas al afectar la productividad del hospedador, disminuyen la tasa de crecimiento, la fecundidad y aumenta la mortalidad (Min y Hart, 2003; Moreno *et al.*, 2010). La parasitosis gastrointestinal es una de las enfermedades que mayor impacto económico ocasiona en los sistemas de producción de carne (Moreno *et al.*, 2010). Las parasitosis gastrointestinales que afectan la salud de los rumiantes son producidas generalmente por helmintos (nematodos, céstodos) y protozoarios; estos representan una amenaza para los animales, ya que causan anorexia, reducción en la ingesta, anemia y aumenta el riesgo de infección, que a largo plazo provoca un incremento del periodo necesario para lograr el peso apropiado en los animales de engorda (Rodríguez-Vivas, 2001; Quijada *et al.*, 2008).

Las parasitosis gastrointestinales se encuentran entre las principales enfermedades de los bovinos de producción de carne y constituyen una de las causas más importantes de pérdida de rentabilidad en los ranchos (Entrocasso, 2001). En la actualidad, esta enfermedad provocada por nematodos gastrointestinales presenta su forma aguda de modo esporádico, usualmente cuando se exponen animales jóvenes susceptibles a pasturas contaminadas y de baja calidad durante un tiempo prolongado. Normalmente, la parasitosis cursa de forma subclínica y ocasiona pérdidas que se sitúan en un rango de 40 a 60 kg por animal durante el invierno, (Bulman, G. M. y Ihde, A. J. 1985).

Fiel, C. (2013), menciona que dado que el kilaje perdido no se suele recuperar durante la primavera y se prolonga el tiempo de obtención del peso al sacrificio. Es importante destacar que los fenómenos climáticos conocidos como “El Niño” y “La Niña” han cambiado las condiciones ambientales de forma tal que resultan favorables para la supervivencia de los estadios de vida libre de los nematodos gastroentéricos. El consecuente aumento en la contaminación de las pasturas ha estimulado un incremento importante en el número de tratamientos utilizados y, de este modo, la pérdida de efectividad del principio

activo y la producción de resistencia al mismo. Es por las razones antes mencionadas que en la actualidad se han reportado casos de cargas parasitarias en zonas no habituales, (Bulman, G. M. y Ihde, A. J. 1985).

A esta problemática, se agrega la presencia cada vez más importante de resistencia a los principios activos antiparasitarios, ocasionada principalmente por el uso inadecuado de los mismos (fundamentalmente por parte de propietarios que, minimizando la problemática, prescinden de la opinión y el asesoramiento profesional). Es importante resaltar que la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) en su conferencia anual del año 1999 reveló que el 55% de los países encuestados informaron la presencia de resistencia parasitaria; el 86% de ese porcentaje correspondió a los medicamentos antihelmínticos (Entrocasso, C., 2001).

2.2. Patogenia y signos clínicos.

Existen tres grupos de rumiantes que se pueden considerar más propensos a tener altas cargas parasitarias: los jóvenes, por su escaso desarrollo inmunitario; los adultos, ya que son animales inmunosuprimidos y los animales expuestos a altas cargas parasitarias (Zajac, 2006). La gravedad de la enfermedad parasitaria está directamente relacionada con factores como: la carga parasitaria, el estado general e inmunológico del animal, estrés, el clima, el tipo de pasto carga de animales y la dieta (Kassai, 1999).

La patogénesis de la enfermedad por NGL está ligada a una depresión en el consumo de alimento voluntario (Fox, 1997), en estudios realizados por el mismo autor se determina la posibilidad de que el incremento de gastrina a nivel sanguíneo, puede contribuir a la disminución del apetito de los animales afectados por estos parásitos.

Los principales efectos patógenos de dichos parásitos son causados por los estadios adultos L4, que causan anemia grave ya que se alimentan de sangre, dicha anemia suele hacerse evidente aproximadamente dos semanas después de la infección (Baker et al., 1959). La enfermedad aguda es generalmente dependiente de la intensidad y se asocia con signos de anemia hemorrágica, heces de color oscuro, edema, debilidad, entre otros signos que ya han sido

mencionados anteriormente.

A diferencia de muchos otros parásitos gastrointestinales, *H. contortus* no es una causa principal de diarrea, y sus efectos no son fácilmente detectables mediante la observación de rutina (Zajac, 2006). Los signos primarios de la haemoncosis son anemia e hipoproteinemia. El inicio de la enfermedad puede ser repentino, con animales aparentemente sanos. En los casos crónicos puede haber pérdida de lana, disminución de diámetro de la fibra, y pérdida de peso, las cavidades del cuerpo pueden estar llenas de líquido, principalmente edema intermandibular, se presenta también la palidez de las membranas mucosas y la materia fecal es de consistencia variable (Craig, 2009).

2.3. Métodos de control de nematodos gastrointestinales.

Los antihelmínticos además de ser clasificados en base a sus principios activos, mecanismos y espectros de acción (Campbell, 1986), pueden clasificarse de acuerdo a si requieren o no de la manipulación de los animales para su administración (Raynaud, 1981; Troncy *et al.*, 1981).

La medición de los efectos de las infecciones parasitarias subclínicas, se realiza de forma rutinaria a partir de parámetros de rendimiento, tales como aumento de peso, conversión alimenticia, utilización de forraje, tasa de concepción, intervalo entre partos, producción de leche y la resistencia a enfermedades (Corwin, 1997).

La mezcla del antihelmíntico con sal común ha dado muy buenos resultados, al garantizar en la mezcla la cantidad de desparasitante requerida para un volumen de sal determinado; esto es en virtud de la capacidad de los bovinos de autolimitar su consumo de sal, ingiriendo sólo lo suficiente para cubrir sus necesidades fisiológicas (Flores, 1983).

De igual forma existen tres principios fundamentales para el control de parásitos gastrointestinales de rumiantes, como primera medida se encuentra la reducción de la exposición a larvas en estadio infectante (L3), esto, mediante pastoreo rotativo y disminución de la carga de animales; en segundo lugar el desarrollo de respuestas más favorables por medio del hospedero, que

se consigue mediante la vacunación, la nutrición adecuada, selección genética y mejoramiento de resistencia de los rebaños; el tercer principio va dirigido a la reducción de las cargas parasitarias mediante la administración de antihelmínticos tradicionales (sintéticos) o no tradicionales (vegetales o minerales). (Hoste y Torres-Acosta, 2011).

2.2.1. Antihelmínticos convencionales.

El ganado que se explota en pastoreo mantiene una relación directa con el medioambiente, lo que provoca que aparezcan enfermedades parasitarias causadas por nemátodos gastrointestinales (NGI). Estas enfermedades constituyen la principal causa de pérdidas económicas en América Latina y otras regiones pecuarias del trópico y subtropico del mundo (Miller et al., 2012).

Los antihelmínticos constituyen actualmente el principal método de control de los nematodos de rumiantes en el mundo (Lañese, Gascon y Prichard, 1993).

Asi mismo, se han realizado estudios que demuestran los efectos negativos que tienen en el ambiente algunos antihelmínticos como la fenotiazina que, aunque en desuso, ejercía efectos adversos sobre el crecimiento del trébol, lo que se traducía en una reducción del forraje y, por tanto, en una disminución de la producción (Waller, 1999). Los antihelmínticos que se utilizan actualmente por los productores, son las ivermectinas las que probablemente ejercen más efectos negativos sobre el medio ambiente, en poblaciones de insectos benéficos asociados al estiércol, principalmente en sus formas larvianas (Papadopoulos, 2008).

2.2.2. Métodos no convencionales.

2.2.2.1. Plantas

En el control de parásitos se han utilizado diversas plantas que contienen sustancias bioquímicas con efecto antihelmíntico. Los principales compuestos de estas plantas son los terpenos, los alcaloides, las saponinas, las antraquinonas y los taninos; estos han sido usados por las comunidades

indígenas de América Latina en la herbolaria tradicional, como una práctica milenaria, y actualmente se evalúan en diversos estudios a nivel mundial con un concepto etnobotánico (Alonso *et al.*, 2009). En este sentido, Hernández y López (2000) estudiaron el efecto antihelmíntico de los extractos de las siguientes plantas medicinales: estafiate (*Artemisia ludoviciana*), epazote (*Dysphania ambrosioides*), semilla de calabaza (*Cucurbita* sp.), semilla de papaya (*Carica papaya*) y ajo (*Allium sativum*), y encontraron una acción antiparasitaria variable y con una eficacia de moderada a baja.

De igual forma, Martínez (2010) evaluó el efecto de plantas ricas en taninos (*Lysiloma latisiliquum*, *Onobrychis viciifolia* y *Chinopsis* sp.), y sus resultados sugieren que los compuestos del follaje de dichas plantas pueden intervenir en funciones vitales de los NGI como la movilidad, la nutrición y, posiblemente, la reproducción; pero en ambos casos el efecto antihelmíntico es reducido si se compara con el de los productos antihelmínticos comerciales.

Dichas propiedades bioactivas se atribuyen a los metabolitos secundarios de las plantas, motivo por el cual estudios recientes han sugerido que su utilización como nutracéuticos con propiedades antihelmínticas (Hoste *et al.*, 2006). Se han realizado hasta el momento estudios *in vitro* e *in vivo* en los cuales se evaluó la actividad antihelmíntica de los taninos condensados evidenciando la alteración de la cutícula tras la exposición a dicho metabolito, además de retardar el desarrollo larvario (Hoste *et al.*, 2006).

2.2.2.2. Control biológico.

En la naturaleza existe gran diversidad de organismos antagónicos a los parásitos que han llegado a tener un impacto beneficioso como controladores biológicos en el caso de los bovinos.

Aguilar (2012) señala que dentro de los principales enemigos naturales de los NGI se encuentran las bacterias, los ácaros y los hongos. Este autor evaluó la capacidad de adhesión de las esporas de la bacteria *Pausteria* sp., para disminuir las poblaciones de *H. contortus*, y obtuvo porcentajes de adhesión de 0-40 % en diferentes estadios biológicos. También estudió la habilidad depredadora del ácaro *Lasioseius penicilliger* sobre larvas infectantes de *H.*

contortus, y estas se redujeron en un 79,5 %.

En un estudio in vitro en el que se evaluó la capacidad depredadora del hongo nematófago *Duddingtonia flagrans* sobre *Ostertagia circumcincta*, *H. contortus* y *Trichostrongylus colubriformis*, la captura de larvas osciló entre 40 y 93 % (González, 2006). Asimismo, Ojeda et al. (2008) observaron que la capacidad depredadora de *D. flagrans* sobre las larvas de nemátodos gastrointestinales se evidenció en un 37-92 % de reducción de estas. Sin duda, los resultados de estos estudios son alentadores y demuestran que dicha alternativa de control de NGI de los ovinos tiene un gran potencial.

Existen nematodos predadores en el suelo que se alimentan de larvas infectantes de nematodos gastrointestinales; por lo que se ha propuesto su empleo a fin de disminuir grandes poblaciones de dichos parásitos que se encuentran en los potreros infestando los pastos (Quiroz et al., 2011).

Se ha mencionado la actividad ovicida y/o sobre larvas en estadio temprano, de bacterias prebióticas provenientes de cabras tales como *Bifidobacterium* DDBA, *Lactobacillus* DDL19, *Lactobacillus* DDL48; pero su actividad se limita a infecciones parasitarias moderadas (Quiroz et al., 2011).

2.2.2.3. Inmunización con vacunas.

La inmunización se ha utilizado como método de control alternativo de los NGI. En este sentido, Rodríguez *et al.*(2011) inocularon 3 700 larvas L3 de *H. contortus* a corderos, lo que redujo el número de huevos por gramo de heces (HPG); sin embargo, esta inmunización no mejoró la ganancia de peso en ovinos en pastoreo.

En cuanto a las vacunas, los avances más importantes han sido el descubrimiento y la caracterización de los antígenos que confieren inmunidad. El antígeno H-11 se ha utilizado para la producción de vacunas contra *H. contortus*, y ya es posible desarrollar esta vacuna de forma comercial (Martínez, 2010). Sin embargo, la producción de antígenos para la vacunación de los ovinos es una estrategia relativamente nueva y no existen suficientes estudios que demuestren su efectividad, por lo que se requiere realizar

investigaciones sobre este tema. Asimismo, aun se deben descubrir las vacunas contra los demás géneros de nemátodos parásitos de los ovinos.

La elaboración de vacunas con DNA que contienen específicamente antígeno H- 11 contra *H. contortus*. (Medina et al., 2014), ha sido tema de estudio y se han obtenido resultados favorables en cuanto a su efectividad contra nematodos gastrointestinales; dicha vacuna genera una respuesta inmune de protección sin causar ningún daño al hospedero.

2.2.2.4. Agujas de cobre.

Se ha reportado la disminución significativa de cargas de *H. contortus* entre un 75 y 90% mediante el uso de capsulas (Martínez, 2010) y agujas (Aguilar et al., 2011) de óxido de cobre, que liberan iones de cobre que ejercen un efecto antihelmíntico; pero no se evidencia mejoría en la ganancia de peso, además, se ha demostrado la acumulación de este mineral en el hígado (Medina et al., 2014).

2.4. Resistencia antihelmíntica.

La Resistencia antihelmíntica es un fenómeno cosmopolita que disminuye gradualmente el efecto antihelmíntico sobre los parásitos de todas las especies, incluyendo al hombre (Jabbar *et al.*, 2006). Además, es una capacidad heredable de los parásitos para sobrevivir a tratamientos que, a dosis terapéuticas, normalmente causan la inhibición del crecimiento o la muerte de los individuos de una población normal o susceptible (Martínez, 2010). El primer caso de NGI resistentes a los antihelmínticos fue reportado en 1977, en Estados Unidos (Drudge *et al.*, 1977).

Por otra parte, en México, Campos *et al.* (1990) reportaron el primer caso de RA, en el cual identificaron una cepa de NGI resistente al albendazol. Asimismo, los parásitos resistentes son una realidad en muchos rebaños del sureste de México, América Latina y el mundo (Torres *et al.*, 2011; Torres *et al.*, 2012). El uso de antiparasitarios de relativo bajo costo, efectivos y de fácil aplicación ha hecho posible el control de las plagas que afectan las especies productivas del mundo entero, de esta forma el uso sistemático de químicos por

los productores ha conducido al desarrollo de la resistencia parasitaria (Nari, Eddi, Martins y Benavides, 2003).

Así mismo, la resistencia se ha definido cómo la disminución de la eficacia de un compuesto químico contra una población de parásitos que, por lo general, es sensible a ese medicamento. Es de naturaleza genética (Lara, 2007).

La resistencia puede ser intrínseca o adquirida (Mottier, Alvarez, Fairweather y Lanusse, 2006). En la resistencia intrínseca, un parásito es naturalmente insensible a un medicamento, debido a la ausencia de receptores o a la imposibilidad del fármaco para entrar al sitio de acción de la misma, como ocurre en la resistencia de los trematodos y cestodos a los endectocidas. La resistencia adquirida se presenta en los parásitos que inicialmente son susceptibles a la acción terapéutica de un fármaco, y posteriormente dejan de serlo luego de la ocurrencia de modificaciones genéticas que son heredables de generación en generación (Márquez, 2003).

2.5. Diagnóstico de nematodos gastrointestinales.

El diagnóstico específico y sensible de infecciones por nematodos gastrointestinales apunta al control efectivo de la enfermedad, que ahora es especialmente importante debido a los problemas asociados con resistencia antihelmíntica en las poblaciones de parásitos (Roeber, Jex y Gasser, 2013).

Las diferentes especies de nematodos gastrointestinales pueden ser variables en su patogenicidad, distribución y susceptibilidad a diferentes antihelmínticos, por lo que el diagnóstico preciso de infecciones parasitarias son de gran importancia, ya que esta información apoya directamente a las estrategias de control de parásitos (Roeber, Jex y Gasser, 2013).

Diversos métodos se emplean para el diagnóstico de infecciones por nematodos gastrointestinales, siendo más comúnmente empleados: la observación de signos clínicos indicativos de la enfermedad, el examen microscópico de las heces de los huéspedes infectados y los enfoques de diagnóstico bioquímicos y / o serológicos; se podría decir que estas técnicas son poco detalladas y por lo tanto carecen de sensibilidad y especificidad

(Kassai, 1999).

La enfermedad causada por nematodos gastrointestinales se manifiesta en una variedad de signos clínicos que incluyen: desgrasado, anemia, pérdida de la condición corporal y en casos graves la muerte. El tipo y el grado de manifestación clínica también están influenciados por factores, como la especie y la carga de nematodos que participan, el estado nutricional, inmunológico y reproductivo en el cual se encuentre el huésped (Hungerford, 1990).

El conteo de huevos en las heces es el método más común para el diagnóstico de infecciones por nematodos gastrointestinales y se emplea de forma rutinaria en parasitología; dentro de los métodos empleados para dicho fin se encuentran el método de flotación por medio de centrifugación (Lane, 1922), la técnica de dilución Stoll (Stoll, 1923), el método de McMaster (Gordon y Whitlock, 1939) y el método de flotación Wisconsin (Cox y Todd, 1962), de los cuales el método de McMaster es el más ampliamente utilizado (Nicholls y Obendorf, 1994). Las aplicaciones de estos métodos incluyen: la determinación del grado de contaminación con huevos de helmintos (Gordon, 1967), la estimación de intensidad de la infección (McKenna, 1987), la evaluación de la eficacia de los antihelmínticos (Waller, 1999) y como un medio de orientación para las decisiones de control y tratamiento (Brightling, 1988).

En los casos de infecciones mixtas se han empleado los métodos de cultivos fecales con el fin de identificar los diferentes géneros de nematodos presentes en dichas infecciones, estos métodos se han desarrollado para identificar los estadios tempranos L1 o L3 infectivos de nematodos strongilidos, los más utilizados implican la incubación de material fecal para la obtención de L3 y su posterior diferenciación morfológica (Roeber, Jex y Gasser, 2013).

Otras alternativas diagnósticas tienen enfoques bioquímicos e inmunológicos desarrollados con el fin de proporcionar un diagnóstico específico de infección. Estos métodos se basan principalmente en la medición de parámetros como detección de pepsinógeno sérico elevado, ya que las glándulas de la mucosa gástrica al ser destruidas por el parásito, disminuyen la producción de ácido

clorhídrico por parte de las células parietales, causando un incremento en el pH del abomaso resultando en la alteración de la transformación de pepsinógeno a pepsina activa (Levine, 1968). Por lo tanto, un aumento en la concentración de pepsinógeno sérico podrá relacionarse con daños en la mucosa. Sin embargo la existencia de otras enfermedades parasitarias o no parasitarias pueden ser las responsables de un aumento moderado de las concentraciones de pepsinógeno en la sangre, lo que limita la especificidad de esta prueba. Los niveles de gastrina o anticuerpos circulantes podrían ser indicativos de infecciones parasitarias ya que los nematodos estrogilidios pueden estimular las células T, aumentando como consecuencia la producción de gastrina, pero al igual que la prueba anteriormente mencionada, tiene poca especificidad ya que factores tales como la dieta, la lactancia o lesiones abomasales, también pueden afectar los niveles de gastrina. (Berghen et al., 1993). Se han establecido también métodos diagnósticos de medición inmunológica que se basan en la detección de la respuesta inmune de los animales afectados y los antígenos del parásito (Ogunremi et al., 2008). Este método diagnóstico puede clasificarse como directo o indirecto.

Los métodos inmunológicos directos proporcionan evidencia de una infección y pueden estar basados en la detección de antígenos de parásitos que se encuentran presentes en la circulación y en los excrementos de los huéspedes infectados (Cohen y Sadun, 1976).

Los métodos inmunológicos indirectos están basados en la detección de anticuerpos anti-parásitos o respuestas inmunes mediadas por células del huésped infectado. Dentro de estas pruebas se encuentran: la prueba de fijación del complemento, inmunofluorescencia indirecta, hemaglutinación indirecta y ELISA siendo este último, el más utilizado (Doenhoff, Chiodini y Hamilton., 2004).

Existen técnicas moleculares que son consideradas como alternativas viables para la identificación de especies, así como las diferencias a nivel molecular dentro de una especie (cepas) de parásitos. Dichas técnicas se basan en las diferencias en DNA determinadas mediante técnicas moleculares como PCR, AFLP, RAPD, RFLP, PCR-SSCP, PCR en tiempo real. Estas técnicas también

se han empleado como medio para diferenciar y evaluar la diversidad genética entre población de parásitos (Ahmed et al., 2011).

2.6. Nemátodos

En México, las infecciones en condiciones naturales normalmente son mixtas, ocasionadas principalmente por los géneros *Haemonchus*, *Trichostrongylus*, *Cooperia* y *Oesophagostomum* (Rodríguez et al., 2001; Olivares et al., 2006) En regiones de la América tropical, los géneros predominantes han sido *Haemonchus*, *Cooperia* y *Trichostrongylus* (Bianchin y Honer, 1987; Borges et al., 2012) y en los Estados Unidos (Gasbarre et al., 2009), en donde *Haemonchus* y *Cooperia* han sido los géneros más predominantes. Estas infecciones tienen como consecuencia trastornos digestivos y metabólicos que repercuten en la salud y bienestar del hato, los grupos que son más susceptibles a las infecciones con nematodos gastrointestinales son los bovinos jóvenes, cuando la inmunidad todavía no se ha establecido (Rodríguez et al., 2001).

2.6.1 *Haemonchus* sp.

Éste nemátodo se localiza en el abomaso de los rumiantes (Rojas et al., 2012). Los machos miden 19-22 mm y las hembras 25-34 mm, son hematófagos y en fresco tienen color rojo debido a la sangre ingerida, por lo que siempre existe una marcada anemia (Barragán y Pertuz, 2006; Armijos, 2013); la pérdida de sangre se calcula de 0.05 mL por parásito, presentándose sangre en las heces a los 6-12 días de la infección (Armijos, 2013). La migración de las larvas a las cavidades de las glándulas gástricas en la pared del abomaso y la lesión causada a la mucosa por fijación de los adultos provocan una abomasitis; interfiriendo en la digestibilidad y absorción de proteínas, calcio y fósforo, aumentando el pH (Armijos, 2013).

2.7. Fitoterapia.

La fitoterapia es un neologismo empleado por Henri Leclerc, médico francés (1870- 1955), en los comienzos de siglo, desde entonces la palabra fitoterapia es utilizada para designar la utilización de las plantas medicinales con fines terapéuticos, que serviría más tarde para diferenciarla de la forma de curar actual; la medicina sintética o convencional (Avello y Cisternas, 2010).

La Fitoterapia consiste en el empleo de plantas medicinales para fines terapéuticos. Según la OMS (1978 citado en Palomo y Revuelta, 2012) son: “todo aquel vegetal que contiene uno o varios principios activos que pueden ser utilizados en el tratamiento curativo o paliativo de determinadas enfermedades” basada en que su capacidad terapéutica depende de varios factores como los principios activos, su distribución en todas las plantas, la existencia de plantas que combinen estos principios y además el conocimiento de las propiedades terapéuticas de cada uno de ellos y en qué especie se encuentran (Palomo y Revuelta, 2012).

Para situar los límites de la fitoterapia en la Terapéutica actual, y por lo tanto el concepto de la misma, se debe partir de tres premisas:

- Si bien los productos fitoterápicos suelen tener márgenes terapéuticos más amplios y suelen tener menos efectos adversos que los fármacos sintéticos, natural no es sinónimo de inocuo.
- Actualmente existe una base científica que sustenta la eficacia de muchos productos fitoterápicos para determinadas indicaciones que constituyen alternativas fuertemente deseables para muchas patologías menores, enfermedades crónicas y prácticas profilácticas.
- La eficacia se consigue solamente con el uso adecuado de los preparados fitoterápicos, tanto en lo que tiene que ver con las indicaciones, como con la forma de administración y la dosificación. La responsabilidad del profesional sanitario en este aspecto, y por ende de su preparación curricular, es insoslayable. También se requiere una legislación adecuada.

Por lo tanto no se debe maximizar ni minimizar las posibilidades de la fitoterapia, sino tener en cuenta que el lugar que debe ocupar en la terapéutica es ni más ni menos que aquel para el cual ha demostrado su utilidad (Palomo y Revuelta, 2012).

2.7.1. Características de la fitoterapia.

La base de los medicamentos fitoterápicos son las drogas vegetales y los diferentes tipos de productos que de ellas se obtienen. El término droga vegetal no debe confundirse con el de planta medicinal. La OMS definió en (1978 citado en Cañigüeral, Dellacassa y Bandoni, 2003), estos conceptos como se indica a continuación:

- Planta medicinal es cualquier planta que en uno o más de sus órganos contiene sustancias que pueden ser usadas con finalidad terapéutica o que son precursores de la semisíntesis químico-farmacéutica.
- Droga vegetal es la parte de la planta medicinal utilizada en terapéutica
- Principios activos son las sustancias responsables de la acción farmacológica (Cañigüeral, Dellacassa y Bandoni, 2003).

La fitoterapia utiliza matrices vegetales complejas. Estas matrices las constituyen plantas enteras, partes de ellas (hojas, tallos, raíces, etc.) y también productos de éstas, resultados de tratamientos directos con algún disolvente o medio que concentre los compuestos afines y facilite su administración, son los llamados extractos. En cualquier caso en esta matriz compleja nos encontramos con un sin número de compuestos de diferente naturaleza química, a esta mezcla se la llama fitocomplejo (Hoffmann, 1992, citado en Avello y Cisternas 2010).

El fitocomplejo es la mezcla de sustancias activas y otras acompañantes que actúan en conjunto para lograr un mismo fin terapéutico, que no sería el mismo si se administraran por separado, o sea como monosustancias (Muñoz, Montes y Wilkomirsky, 1999 citado en Avello y Cisternas 2010).

2.7.2. Historia de la fitoterapia.

El Dr. Auguste Soins en el año de 1865 define con el término fitoterapia la terapia que utiliza las plantas medicinales y Dr. Henri Lecler francés fue quien la popularizó entre la clase médica y científica a principios del siglo XX. Fitoterapia deriva del griego “Phuton”, planta y de “Therapeia”, tratamiento, e incluyen otras terapias especiales como la aromaterapia (con aceites esenciales) y la gemoterapia (con yemas de tejidos vegetales). La historia propiamente dicha de las plantas se inicia con la realización de los primeros herbarios y su constatación por escrito; según Campbell datarían de los asirios (Berdonces, 2003).

El primer texto escrito sobre la terapia con plantas se encuentran en unas tabletas de arcilla grabadas en escritura cuneiforme de la época de los sumerios, datadas aproximadamente en el año 3000 a. C., donde se citan las propiedades calmantes de la adormidera (*Papaver somniferum*). Los egipcios iniciaron la fitoterapia más “racional” conllevando a una sistematización de los diferentes remedios vegetales, el papiro de Ebers (1500 a. C) y el de Edwin Smith (1600 a. C.) son quizás los más conocidos que hacen referencia al uso de las plantas medicinales. El más antiguo conocido es el papiro Kahun (1900 a.C.) y relata remedios en relación con las enfermedades femeninas y como asistir un parto.

Hipócrates atribuye el desarrollo de los medicamentos a observación, molienda, mezcla, cocción, combinando los remedios débiles para adaptarlos a la constitución y fuerza del individuo. De las 257 plantas mencionadas en los trabajos hipocráticos, tan sólo 27 no se siguen utilizando como tales hoy en día. En la edad media se siguió el saber de los antiguos como Galeno, Cratevas, Dioscórides o Plinio, en el siglo IV se escribió el Pseudo-apuleyo (*Herbarius apuleius*) uno de los más usados en Europa Central que contiene las descripciones y recetas con más de 100 plantas medicinales. La llegada de la imprenta en el renacimiento presentó un desarrollo de los textos de

fitoterapia, muchos de ellos compilaciones exhaustivas de textos manuscritos más antiguos.

Una gran cantidad de autores contribuyeron al inicio de la botánica sistemática intrínsecamente ligada a la sistematización de todas las especies de seres vivos. Destacando por encima de todos ellos a Linneo, aceptado como el padre de ésta clasificación, otros autores contribuyeron al desarrollo de esta sistematización y en el campo de la botánica se distinguieron los franceses Lamarck y De Candolle.

Los autores españoles también contribuyeron con sus escritos, al desarrollo de la fitoterapia entre estos encontramos a Nicolás Monardes, Andrés de Laguna y Francisco Hernández (Berdonces, 2003).

En la actualidad, la utilización de plantas medicinales, ha alcanzado un gran auge como recurso terapéutico alternativo para afrontar las carencias de la medicina química, debido a que la mayoría de ellas, tienen propiedades terapéuticas; sin embargo, otras tienen algún factor que les confiere propiedades tóxicas, cuando son utilizadas de manera inadecuada, produciendo efectos y/o reacciones adversas (Osorio, 2010 citado en Martínez, Meza y Guevara 2013).

2.7.3. Futuro de la fitoterapia.

Una de las ventajas de la fitoterapia es que puede aportar un elevado número de drogas vegetales y preparaciones que se han empleado de forma empírica durante siglos. Los avances en la tecnología actual permite a los investigadores optimizar la eficacia, la normalización y la valoración clínica de todos estos medicamentos de uso tradicional, para cumplir con los requisitos exigidos por los estándares internacionales actuales; es por eso que se deben dirigir todos los esfuerzos a la investigación del perfil químico-farmacológico de extractos y combinaciones para racionalizar su aplicación terapéutica. Cuatro áreas de investigación determinarán el próximo futuro de la fitoterapia: los métodos de alta tecnología para realizar los análisis químicos y la estandarización de los extractos vegetales; la búsqueda de otros compuestos bioactivos para el desarrollo de medicamentos; la integración de los nuevos métodos de biología

molecular para el tamizado farmacológico de las plantas y sus constituyentes y el desarrollo de estudios clínicos protocolizados y de ensayos de biodisponibilidad de los extractos vegetales estandarizados (Wagner, 2006).

2.8. Metabolitos secundarios de las plantas.

Son compuestos vegetales que no son estrictamente esenciales para las funciones principales de las plantas, tales como su crecimiento y reproducción, pero han sido asociados con los mecanismos de defensa de las plantas contra los herbívoros (Harborne 1999; Karban et al., 1999 citado en Athanasiadou y Kyriazakis, 2004).

Partes de plantas o extractos ricos en metabolitos secundarios se han utilizado para combatir el parasitismo durante muchos siglos y en varias partes del mundo este tipo de productos se siguen utilizando para este fin. Existe evidencia de los efectos antiparasitarios de éstos metabolitos secundarios contra helmintos, como nematodos y también contra protozoos y parásitos externos (Instituto Internacional de Reconstrucción Rural, 1994 citado en Athanasiadou y Kyriazakis, 2004).

La variación en el contenido de metabolitos secundarios de plantas es el resultado de muchos factores; como el fenotipo de la planta (fenotipo y variedad), las diferentes características ambientales (radiación solar y disponibilidad de agua), la velocidad de crecimiento, madurez, condición nutricional del suelo, depredación y las enfermedades (Waterman y Mole, 1994), así mismo, la aparición de los compuestos secundarios está relacionada con los mecanismos de defensa de la planta y los efectos del suelo y del clima, puede haber un componente genético u otras variaciones pero el genotipo puede ser modificado por una variedad de características bióticas y abióticas, como alteraciones en la bioquímica causadas por el cambio de patrones de asignación de recursos que reflejen las diferentes demandas fisiológicas asociadas con el crecimiento, la defensa y la reproducción (Bowers & Stamp, 1992 citado en Animan y Ebrahimzadeh, 2002). No todos los metabolitos secundarios se encuentran en todos los grupos de plantas, éstos son

sintetizados en pequeñas cantidades y no de forma generalizada, estando a menudo su producción, restringida a un determinado género de plantas, a una o varias familias, o incluso a algunas especies, teniendo funciones ecológicas específicas como atrayentes o repelentes de animales; muchos son pigmentos que proporcionan color a flores y frutos, jugando un papel esencial en la reproducción atrayendo a insectos polinizadores o atrayendo a diversos animales que van a utilizar los frutos como fuente de alimento, contribuyendo a la dispersión de semillas. Otros compuestos tienen función protectora frente a predadores, actuando como repelentes, proporcionando a la planta sabores amargos, haciéndolas indigestas o venenosas. Intervienen en los mecanismos de defensa de las plantas contra una gran variedad de patógenos, actuando como pesticidas naturales. Se agrupan en 4 clases principales: Terpenos entre los que se encuentran las hormonas, pigmentos o aceites esenciales; Compuestos fenólicos como cumarinas, flavonoides, lignina y taninos; saponinas, glicósidos cardiacos, glicósidos cianogénicos y glucosinolatos; y Alcaloides (García y Pérez, 2009). Dentro de estos grupos de metabolitos secundarios se encuentran los taninos, que son compuestos polifenólicos de elevado peso molecular llegando de 500 a 20000 Da, se encuentran en frutas, árboles y en gramíneas y leguminosas (Carretero, 2000; Arévalo, 2008; Beserra *et al.*, 2011; Játiva, 2011; Vázquez *et al.*, 2012). Los taninos son capaces de formar complejos con otras moléculas, debido a la presencia grupos hidróxilo en la estructura química, y por lo tanto, son capaces de ejercer efectos beneficiosos o adversos dependiendo de la concentración y la naturaleza, las especies, el estado fisiológico del animal y composición de la dieta (Beserra *et al.*, 2011). Una característica importante de los taninos, es que presentan suficientes grupos hidróxilo unidos a estructuras fenólicas que les permiten formar complejos con proteínas, minerales y otras macromoléculas (Casciola *et al.*, 2009). Los taninos son capaces de proteger las proteínas de la degradación y del ataque de la microbiota del rumen y de enzimas digestivas enzimática, haciéndolas resistentes a la degradación (Solano, 1997; Romero, 2000; Casciola *et al.*, 2009; Vázquez *et al.*, 2012). El uso de metabolitos secundarios de las plantas pueden reducir el nivel de parasitismo, mejorar el rendimiento de los rumiantes (Athanasidou *et al.*, 2005; Torres *et al.*, 2008), y la utilización de sus extractos (Otero e Hidalgo, 2004; Torres *et al.*, 2008), entre los cuales se

incluyen los taninos como una alternativa prometedora a los antihelmínticos sintéticos (Quijada *et al.*, 2015). Utilizando dosis bajas en cantidad no suficiente para inducir toxicidad en los animales, los Taninos Hidrolizables han mostrado capacidad para mejorar la absorción de nutrientes y el rendimiento productivo de los animales (Frutos *et al.*, 2004). En dos experimentos independientes realizados con un extracto vegetal rico en fenoles se observó un efecto antihelmíntico tanto *in vivo* como *in vitro* contra *H. contortus* (Corona-Palazuelos *et al.*, 2016). Así mismo, se demostró que el uso de éstos extractos con componentes fenólicos como son los taninos, se pueden considerar como una alternativa sustentable para el control de los nematodos en los bovinos en engorda por su actividad antiparasitaria.

2.9. Generalidades de *Macleaya cordata*

Es una planta de la familia de las *Papaveráceas*, nativa de China y Japón, tiene hojas de color verde oliva o gris de 25 cm de largo, tallos altos con plumas aireadas de pétalos, las flores son tubulares, de color blanquecino o crema; se sabe que su extracto tiene efecto antimicrobiano y antiinflamatorio tanto en seres humanos como en animales de granja (Newton, 2002; Jankowski *et al.*, 2009). *Macleaya cordata* es un aditivo efectivo en la dieta de puercos, bovinos, aves e incluso peces (Rawling *et al.*, 2009).

La *Macleaya cordata* es un potente inhibidor de la enzima descarboxilasa, también reduce la pérdida de triptófano y fenilalanina; por lo tanto más aminoácidos quedan disponibles para el animal y hay un mejor balance de proteínas (Juskiewicz, 2013). *Macleaya cordata* reduce la presencia de *Salmonella* en heces de pollos (Pickler *et al.*, 2013). Otros efectos que se han encontrado son la mejora de conversión en pollos (Vieira, 2008), estimulación de la fagocitosis y la actividad lisosomática en cerdos (Gudev, 2004). Ante la tendencia mundial de reducir el uso de antibióticos en los animales destinados a la producción de alimentos (Juskiewicz, 2010), cobra interés la exploración de fuentes alternas como los aditivos fitogenéticos con actividad antimicrobiana (Windisch *et al.*, 2007).

Este alcaloide tiene actividad antibacteriana, ya que inhibe el crecimiento *in vitro* de algunas bacterias, tales como *Agrobacterium tumefaciens*,

Pseudomonas lachrymans y *Xanthomonas vesicatoria* (Liu, 2009). En los seres humanos también se demostró que este extracto tiene ese efecto, ya que inhibió parcialmente la periodontitis, la cual es una inflamación alrededor de un diente causada por bacterias (Chytilová, 2012). En un estudio realizado con pollos suplementados con extracto de *Macleaya cordata* se encontró que este bajaba la actividad β -glucuronidasa y β -glucosidasa bacteriana en el ciego de estos pollos (Juskiewicz, 2013).

III. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. Localización geográfica

La presente investigación estará constituida por 3 experimentos. La fase de campo se realizó en la “Unidad Experimental para Bovinos de Engorda en Trópico Seco” de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Sinaloa, ubicada en los terrenos de Ganadera Los Migueles, S.A de C.V localizado en el km 4 de la carretera federal N° 15, tramo Culiacán – Los Mochis, en Culiacán, Sinaloa, con la siguiente localización geográfica: 24.51° de latitud Norte, 107.26° de longitud Oeste, 57 msnm, temperatura media anual de 24.8 °C, temperatura máxima 33.3 °C y mínima 16.3 °C; precipitación pluvial media anual de 665.6 mm, predomina el clima tropical seco (García, 1981; INEGI, 2009). Las muestras de heces se analizaron en el Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Sinaloa; en Culiacán, Sinaloa.

3.2. Animales Experimentales

Todos los procedimientos con animales siguieron las prácticas de experimentación y cuidado de animales recomendadas por las regulaciones mexicanas (NOM-062-ZOO-1999). Estas regulaciones están en estricta conformidad con las recomendaciones de la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio de los Institutos Nacionales de Salud (NIH y The Weatherall Report), asegurando el cumplimiento de las regulaciones y pautas internacionales.

3.3. Experimento 1.

3.3.1. Tratamientos

El experimento se realizó en las instalaciones de la Unidad Experimental para Bovinos de engorde “Ganadera Los Migueles, SA de CV”. Veinte becerros (Aproximadamente 75% de sangre *Bos indicus*) comprados en varios ranchos de diferentes propietarios del municipio de Mocorito localizados en la Sierra Norte del Estado de Sinaloa, los cuales fueron transportados en camión 150 km hasta la Unidad Experimental. Los becerros recién llegados fueron colocados

en un gran corral de tierra (30 x 45 m) con libre acceso a agua limpia y fresca, fueron alimentados con heno de alfalfa y una dieta de proteína cruda al 15% y los becerros se dejaron descansar durante la noche. Al día siguiente, los becerros fueron pesados, se les colocó un implante en la oreja (Componente TE; Elanco), Vitamina ADE (Vitafluid; Virbac) y vacunados contra *Clostridium* (Ultrabact / Somnubac; Zoetis) y *Mannheimia haemolytica* (One shot; Zoetis). Durante tres días consecutivos, se obtuvieron muestras fecales tomadas directamente del recto de cada animal, se colocaron en bolsas plásticas, se sellaron, identificaron y se transportaron inmediatamente al laboratorio; donde los huevos de los parásitos se contabilizaron como huevos por gramo de heces (EGF) utilizando la Técnica de McMaster.

Los animales se alimentaron ad libitum con una dieta de crecimiento de forraje al 70% (Tabla 1). Una vez detectados los animales positivos a la presencia de parásitos por la eliminación de huevos en las heces, veinte de ellos fueron seleccionados al azar para realizar el experimento de 28 días. En grupos de cinco, los becerros fueron colocados en cuatro corraletas de tierra (6 x 12 m) y asignados aleatoriamente para recibir uno de dos tratamientos: 1) Dieta de crecimiento (Control); o 2) Control más 10g/día de una preparación de plantas de Papaveraceae de *M. cordata* (MCEP). El MCEP se ofreció como Sangrovit® RS (Phytobiotics Futterzusatzstoffe GmbH, Eltville, Alemania), una preparación de extracto de planta estandarizada de *M. cordata*; el extracto está estandarizado para contener 3 g de benzofenatidina cuaternaria y alcaloides protopina (QBPA) por kilogramo de producto (Aguilar-Hernandez *et al.*, 2016). La dosis de 10 g/día (150 mg/kg de peso corporal^{0.75}) se seleccionó para que fuera aproximada al 50% del nivel máximo (284 mg/kg de peso corporal^{0.75}) utilizado por Aguilar-Hernández *et al.* (2016) en un experimento de metabolismo digestivo en el que se alimentaron con 0, 6, 12 o 18 g de MCEP / día a novillos Holstein de 253 kg.

La dosis diaria de MCEP por cinco animales en corral, se mezcló en 1 kg de maíz molido y se añadió en el tercio superior del alimento al momento de ser servido en el comedero (15:00 h). Los corrales Control recibieron 1 kg de maíz molido para equilibrar el manejo de la alimentación. Los tratamientos se dieron

durante 28 días, cuando se volvieron a pesar los becerros y durante tres días consecutivos se obtuvieron muestras fecales tomadas directamente del recto de cada becerro y se procesaron como se describió anteriormente.

3.3.2. Análisis Estadísticos

Los datos obtenidos de los huevos por gramos de heces no se pudieron normalizar para su análisis, incluso después de la transformación logarítmica, por lo que; los datos se analizaron mediante el análisis de varianza unidireccional de Kruskal-Wallis en rangos, seguido de una comparación por pares mediante el método de Dunn (Gasbarre et al., 2009). La ganancia diaria de peso se analizó mediante ANOVA con un diseño de bloques completos al azar (Hicks, 1973) y se fijó un nivel máximo de $P \leq 0.05$ para aceptar diferencia estadística. Todos los análisis estadísticos se realizaron con la versión 9 de Statistix Software (2007; Tallahassee, FL).

3.4. Experimento 2.

3.4.1. Parásitos

Se usaron Larvas 3 de *H. contortus* las cuales fueron donadas por el Departamento de Parasitología de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM, aisladas y caracterizadas según lo descrito anteriormente (Gutiérrez-Amézquita *et al.*, 2017), donde se recolectaron heces de un borrego inoculado con larvas de *H. contortus* y se obtuvieron L₃ del cultivo de heces, las cuales fueron lavadas con agua destilada, mismas que se mantuvieron en refrigeración a 4°C para su conservación y posterior empleo (Alonso-Díaz et al., 2011; Ochoa y Mujica, 2015).

3.4.2. Preparación estandarizada de extracto de plantas de *M. cordata* (MCEP)

El MCEP se usó para preparar una solución madre de 100 mg/mL usando agua destilada como solvente, después de que se agitara fuertemente y se filtrara con papel Whatman®-1, se diluyó a cinco concentraciones de MCEP, los cuales consistieron en los siguientes tratamientos: 0, 2.5, 5, 7.5 y 10 mg/mL.

3.4.3. Bioensayo

Las soluciones que contenían la concentración de MCEP descrita se colocaron en placas de 45 pocillos que contenían aproximadamente 50 L₃ y se mantuvieron a 37°C durante 24, 48 y 72 h. Todo el procedimiento se realizó por triplicado y se repitió en tres días diferentes. Después de la exposición al tratamiento, se tomaron alícuotas de L₃ y observadas al microscopio óptico, se contaron 100 larvas por tratamiento. Las larvas con movimiento se consideraron vivas; y las larvas que no mostraron un movimiento perceptible incluso bajo la intensa exposición a la luz del microscopio estereoscópico se consideraron muertas.

3.4.4. Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)

Para la preparación de las muestras para SEM, las L₃ expuestas a diferentes concentraciones de MCEP en distintos tiempos, se fijaron con formalina al 4% durante 24 h, se lavaron dos veces durante 10 minutos con agua destilada y dos veces con solución salina. Se realizó deshidratación progresiva con soluciones graduadas de etanol durante 1 h, con tres lavados posteriores (1 h cada uno) utilizando etanol al 100%. Se completó un proceso de secado de punto crítico utilizando extradry-CO₂. Se colocaron L₃ deshidratadas sobre portaobjetos de aluminio adhesivo de carbono y se cubrió con una capa de oro de 20-nm durante 2 minutos y se observaron con un microscopio electrónico de barrido Hitachi S450® de 10 a 15 kv (Martínez-Ortiz-de-Montellano *et al.*, 2013).

3.4.5. Análisis Estadísticos

La mortalidad de L₃ de *H. contortus* expresada como porcentaje se sometió a una prueba de normalidad y posteriormente a un Análisis de Varianza para un diseño experimental completamente al azar con un diseño factorial de tratamientos 5 x 3 (cinco dosis de MCEP y tres tiempos de incubación). La diferencia de medias se realizó con la prueba de Tukey; se fijó un nivel máximo de $P \leq 0.01$ para aceptar diferencia estadística. Se utilizó la versión 9 del

programa Statistix para realizar todos los cálculos estadísticos. La LD₅₀ se obtuvo por interpolación a las curvas de mortalidad.

3.5. Experimento 3.

3.5.1. Parásitos

Las ovejas utilizadas en este estudio fueron sacrificadas humanitariamente en el matadero municipal de Costa Rica, Culiacán, México, para la obtención de carne. Los autores no participaron en el sacrificio, solo intervinimos en la recolección de los parásitos. El abomaso de ovino se seccionó longitudinalmente, y su contenido fue recolectado y tamizado, conservando el estado adulto de *H. contortus*. Además, los parásitos se recogieron de la pared de la mucosa abomasal. Los parásitos se colocaron en solución salina y se separaron por sexos como describen Martínez Ortiz-de-Montellano *et al.* (2013).

3.5.2. Preparación estandarizada de extracto de plantas de *M. cordata* (MCEP)

El MCEP se usó para preparar una solución madre de 100 mg/mL usando agua destilada como solvente, después de que se agitara fuertemente se filtrara con papel Whatman®-1. Y se diluyó a siete concentraciones de MCEP en los que consistieron los siguientes tratamientos: 0, 3.75, 7.5, 11.25, 15.0, 25.0 y 50.0 mg/mL.

3.5.3. Bioensayo

Las soluciones que contienen la concentración de MCEP descritas anteriormente se colocaron en placas de Petri (50 mm); en cada una se colocaron de 15 a 20 adultos de *H. contortus* y se incubaron a 37°C, en atmósfera de CO₂ al 5% durante 2, 4, 6 y 24 horas. Todos los procedimientos se realizaron por triplicado y se repitieron en tres días diferentes. Los parásitos se observaron usando un microscopio estereoscópico y se contaron como vivos cuando el movimiento era evidente después de la estimulación con luz, o muertos cuando la movilidad no era perceptible, incluso después de la exposición a una luz brillante.

3.5.4. Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)

Los parásitos expuestos a diferentes concentraciones de MCEP durante distintos tiempos, se fijaron con formalina al 4% durante 24 horas, se lavaron dos veces durante 10 minutos con agua destilada y dos veces con solución salina. Se realizó una deshidratación progresiva con soluciones graduadas de etanol durante 1 hora, con tres lavados posteriores (1 hora cada uno) utilizando etanol al 100%. Y se realizó un proceso de secado de punto crítico utilizando extradry-CO₂. Los parásitos deshidratados se colocaron sobre un porta objetos de aluminio con adhesivo de carbono, se cubrieron con una capa de oro de 20-mA durante 2 minutos. Inmediatamente, las muestras se observaron con un microscopio electrónico de barrido S450 (Hitachi) de 10 a 15 kw.

3.5.5. Análisis Estadísticos

Los datos de nemátodos vivos o muertos se usaron para calcular la mortalidad como porcentaje; cada placa de Petri constituyó la unidad experimental. Los datos de mortalidad se analizaron mediante ANOVA para un diseño experimental completamente al azar con un diseño factorial de tratamientos de 7 x 4 (siete niveles de MCEP y cuatro tiempos de incubación). Se fijó un nivel máximo $P \leq 0.01$ para aceptar diferencia estadística y para la separación de medias se realizó mediante la prueba de Tukey. Todo el cálculo se realizó con la versión 9 del Software Statistix (Analytical Software, 2007). Las dosis letales medias (LD₅₀) y LD₉₀ se obtuvieron con la curva de mortalidad a las 6 horas.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Experimento 1. *In vivo*

Los resultados de la influencia de la preparación de plantas de *Macleaya cordata* (MCEP) sobre la presencia de huevos de nemátodos en las heces de becerros en crecimiento se muestran en la Tabla 2. El peso corporal después de 28 días de recibir la preparación de plantas fue mayor ($P = 0.03$) que el observado en becerros que no lo recibieron; sin embargo, debido a que el peso inicial también fue mayor ($P = 0.05$), estos datos no son relevantes, como se muestra para la ganancia diaria de peso promedio que fue similar entre los tratamientos ($P = 0.26$). En general, el conteo total de huevos de nemátodos disminuyó 71% como consecuencia de la suplementación de 28 días de MCPE ($P = 0.04$). Este resultado sugiere que la preparación de la planta tiene actividad antihelmíntica contra algunos géneros de nemátodos. El recuento de huevos muestra que después de 28 días de tratamiento disminuyó 75% *Haemonchus* sp, EGF ($P < 0.05$) así como *Cooperia* sp ($P = 0.03$) sin actividad detectable en *Trychostrongylus* sp.

Experimento 2. Larvas 3

Los análisis factoriales indicaron que tanto la dosis como el tiempo de exposición modifica la mortalidad por *H. contortus* L-3 ($P < 0.001$), adicionalmente se observó una interacción dosis x tiempo ($P < 0.001$). La interacción se debió a que la mortalidad no se afectó ($P > 0.10$) para ninguna dosis de preparación de la planta durante las primeras 48 h. Sin embargo, después de 72 h la mortalidad aumentó linealmente ($P < 0.001$) a medida que aumentaba la concentración de preparación de la planta en la solución (Cuadro 3). Después de 72 h, la mortalidad alcanzó el 100% con la dosis de 10 mg/mL, la dosis letal media del preparado vegetal *M. cordata* y para *H. contortus* L₃ se calculó como 6.3 mg/mL utilizando el método gráfico como se presenta en la Figura 1. Las fotografías mostradas en la Figura 2, permiten observar el daño comparativo que los tratamientos provocaron en la cutícula y otras estructuras de las L₃ de *H. contortus*.

Experimento 3. Adultos

Los resultados de la influencia de la dosis de preparación de la planta de *M. cordata* y el tiempo de exposición sobre la mortalidad *in vitro* de adultos de *H. contortus* se muestran en la Tabla 4. La mortalidad aumentó linealmente ($P < 0.001$) a medida que aumentaba tanto el tiempo como la dosis. Se observó una interacción dosis x tiempo de exposición ($P < 0.001$), debido principalmente al tratamiento Control que su mortalidad fue cero durante las primeras 6 h, pero a las 24 h de exposición la mortalidad se disparó al 84% indicando que los adultos de *H. contortus* experimentó graves problemas para sobrevivir fuera del cuerpo de los rumiantes durante un tiempo prolongado como 24 h. Por lo tanto, se podría utilizar un tiempo de exposición de hasta seis horas para realizar cualquier comparación del impacto de la preparación de la planta de *M. cordata* sobre la mortalidad de *H. contortus*. En cada tiempo de comparación, la dosis más alta de 50 mg/mL mató completamente ($P < 0.01$) a los adultos de *H. contortus*. Tomando como base los resultados a las 6 h de tiempo de exposición, para los adultos de *H. contortus* se calculó la Dosis Letal-50 en 12.6 mg/mL (Figura 3). En la Figura 4, es posible observar la severidad del daño provocado por la exposición a soluciones de MCEP en varias estructuras incluyendo la cutícula de la forma adulta de los parásitos.

Los huevos de nemátodos encontrados en mayor cantidad en las heces de los bovinos fueron *Haemonchus* sp, *Cooperia* sp y *Trychostrongylus* sp. Este resultado está en concordancia con los previamente observados por Corona-Palazuelos *et al.* (2016) quienes encontraron en dos experimentos realizados en la misma región geográfica estos tres géneros de nematodos como predominantes y su presencia de HPG en una contabilidad similar. La reducción en el 75% de la producción de HPG de dos de los principales géneros de nemátodos del mundo que parasitan a los rumiantes (Kamaraj y Rahuman, 2011; Chagas *et al.*, 2013), indica que el extracto de *M. cordata* tiene un fuerte impacto en la actividad *in vivo* de estos parásitos. A pesar de la aplicación prolongada de tratamientos, los nemátodos no fueron completamente erradicados, podría deberse en parte a la dosis utilizada, que en este caso fue equivalente a 150 mg MCEP/kg BW^{0.75} o 1.6 mg MCEP/g de

alimento así como 0.44 mg MCEP/mL de agua potable. Sin embargo, los 28 días en que los becerros recibieron el suplemento alimenticio de MCEP, podrían considerarse como un tratamiento de mayor duración y suficiente para permitir que la sustancia manifieste sus capacidades como agente antihelmíntico.

El valor de 6.3 mg/mL de MCEP como dosis L_{50} *in vitro* para larvas 3 obtenidas en el experimento, está cerca de valores de 3.12 a 5.32 mg/mL como dosis media de un extracto de metanol obtenido de cinco especies de plantas requeridas para inhibir la actividad del estadio de *Hamonchus contortus* L₃ (Kamaraj y Rahuman, 2011).

Los resultados de mortalidad observados en adultos de *H. contortus* como resultado de la exposición a MCEP, corroboran la toxicidad de la preparación de la planta a los nemátodos apreciada en los experimentos 1 y 2. Con solo 6 h de exposición, cualquier dosis superior a 15 mg/mL fue capaz de matar a todos los *H. contortus* presentes. Considerando que MCEP contiene aproximadamente 3 g de alcaloides QBP/kg de producto (Aguilar-Hernandez *et al.*, 2016), entonces la LD_{50} debería ser equivalente a 37.8 µg de QBPA/mL. Esta dosis parece menor que el rango de 75 a 100 µg de QBPA/mL observado para (Wang *et al.*, 2012) como LD_{50} para los nemátodos parásitos de plantas del adulto *Bursaphelenchus xylophilus* y *Meloidogyne incognita*, así como para el nemátodo modelo *Caenorhabditis elegans*.

Sin embargo, esos resultados se obtuvieron después de un tiempo de exposición de 24 h, y en el estudio actual, solo se requirieron 6 h para manifestar la actividad antihelmíntica de MCEP. Sugiere que *H. contortus* podría ser más susceptible que el nemátodo parásito de las plantas a los alcaloides presentes en MCEP, o que la respuesta observada es consecuencia del efecto acumulativo de los alcaloides descritos (Wang *et al.*, 2012), además de los compuestos fenólicos presentes en *M. cordata* (Kosina *et al.*, 2010), que ha demostrado su capacidad para matar nemátodos (Corona-Palazuelos *et al.*, 2016; Acevedo-Ramírez, *et al.*, 2019).

Combinando la respuesta observada en los tres experimentos que integraron la investigación actual, es posible afirmar que la preparación de la *Papaveraceae* obtenida del extracto de la planta *Macleaya cordata* disponible comercialmente, parece una herramienta biológicamente alternativa que podría contribuir a combatir nemátodos como *H. contortus* en rumiantes, particularmente, en condiciones donde el uso de desparasitante de la industria de síntesis química no es una opción (como ocurre en la producción orgánica), o cuando existe una alta resistencia para antihelmínticos alopáticos.

V. CONCLUSION

Los resultados del estudio actual sugieren que el uso de la preparación de *Papaveraceae*, contribuye en la disminución del impacto negativo de *H. contortus* en rumiantes; disminuyendo la eliminación de huevos fecales, debido a que induce un daño extenso tanto en larvas como en formas adultas del parásito chupador *H. contortus*.

VI. LITERATURA CITADA

- Acevedo-Ramírez, P.M.C., Hallal-Calleros, C., Flores-Pérez, I., Alba-Hurtado, F., 324 Mendoza-Garfías, M.B., Castro del Campo, N., Barajas, R. 2019. Anthelmintic effect 325 and tissue alterations induced in vitro by hydrolysable tannins on the adult stage of 326 the gastrointestinal nematode *Haemonchus contortus*. *Vet. Parasitol.* 266, 1-6. 327 DOI: 10.1016/j.vetpar.2018.12.008
- Aguilar-Hernández, J.A., J. D. Urías-Estrada, M. A. López-Soto, A. Barreras, A. 329 Plascencia, M. Montaña, V. M. González-Vizcarra, A. Estrada-Angulo, B. I. Castro330 Pérez, R. Barajas, H. I. Rogge, and R. A. Zinn 2016. Evaluation of isoquinoline 331 alkaloid supplementation levels on ruminal fermentation, characteristics of digestion, 332 and microbial protein synthesis in steers fed a high-energy diet. *J. Anim. Sci.* 94, 333 267–274.
- Almeida, G. D., D. C. Feliz, R. P. Heckler, D. G. L. Borges, M. K. V. Onizuka, L. E. R. Tavares, F. Paiva, F. a. Borges. 2013. Ivermectin and moxidectin resistance characterization by larval migration inhibition test in field isolates of *Cooperia* spp. In beef cattle, Mato Grosso do Sul, Brazil. *Vet. Parasitol.* 191: 59-65.
- Alonso-Díaz, M. A., J. F. J. Torres-Acosta, C. A. Castro-Sandoval, H. Hoste. 2011. Comparing the sensivity of two *in vitro* assays to evaluate the anthelmintic activity of tropical tannin rich plants extracts against *Haemonchus contortus*. *Vet. Parasitol.* 181: 360-364.
- Arévalo, P. 2008. Taninos condensados en especies forrajeras y sus efectos en la productividad animal. *Revista Electrónica Nutritime* 5: 584-591.
- Armijos, N.I. 2013. Prevalencia de parásitos gastrointestinales de bovinos que se sacrifican en el camal municipal de Santa Isabel. Tesis de Licenciatura. Universidad de Cuenca, Ecuador.
- Assefa, A., Kechero, Y., Tolemariam, T., Kebede, A., Shumi, E. 2018. Anthelintic effects 335 of indigenous multipurpose fodder tree extract against *Haemonchus contortus*. *Trop 336 Anim Health Prod.* 50, 727-732.
- Avello, E., E. A. Silveira, F.I. Peña, M. C. Camacho y M. A. Arce. 2006. Actividad antihelmíntica in vitro de extractos de *Azadirachta indica* A Juss,

Momordica charantia L. y *Chenopodium (Teloxys) ambrosioides* L. Weber. Red-Vet. 11: 1-10.

- Barragán, S.A, G.G. Pertuz. 2006. Prevalencia de parásitos gastrointestinales y pulmonares en terneros lactantes pertenecientes a explotaciones ganaderas del noroccidente del municipio de Majagual, Sucre. Tesis de Licenciatura. Universidad de Sucre, Colombia.
- Berry. E. D, Wells J. L. Archibeque S. L, Ferrel. C. L. Freetly, H. C., Miller. D. N. 2006. Influence of genotype and diet on steer performance, manure odor, and carriage of pathogenic and other fecal bacteria. II. Pathogenic and other fecal bacteria. J. Anim. Sci. 84: 2523-2532.
- Beserra, L.M., C.M. Leal, S. Maia, A.L. Fernandes, L.T. Freitas. 2011. Plantas taaniníferas e o controle de nematoides gastrintestinais de pequenos ruminantes. Ciencia Rural 41: 1967-1974.
- Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. International Journal of Food Microbiology 94:223– 253.
- Butter, N.L, J.M. Dawson, D. Wakelin and P.J. Buttery. 2000. Effect of dietary tannin and protein concentration on nematode infection (*Trichostrongylus colubriformis*) in lambs. The Journal of Agricultural Science. 134:89-99.
- Carretero, M.E. 2000. Compuestos fenólicos. Panorama Actual Med 24: 33-636.
- Chicaiza-Tisalema, E., M. Barros-Rodríguez, H. Zurita-Vásquez, R. Mera-Andrade, G. Velástegui-Espín, M. Muñoz-Espinoza, S. Espinoza-Vaca, P. Ortiz-Tirado, E. Ibarra-López. 2016. Efecto antihelmíntico in vitro del extracto de *Albizia lophantha* sobre nematodos gastrointestinales de caballos. Rev. Inv. Vet. Perú 27: 556-560.
- Chytilová, K., Galandáková, A., Pazdera, J., Rajnochová Svobodová, A., Simánek, V. 2012. Effect of *Macleaya Cordata* (Willd)R.Br. Extract on Expression of Inflammatory Markers and Oxidative Stress in Gingival Fibroblasts. Česká Stomatologie Roc. 2:47-56
- Chagas, A.C.S., L. M. Katiki, I. C. Silva, R. Giglioti, S. N. Esteves, M. C. S. Oliveira, W. 338 Barioni Jr. 2013. *Haemonchus contortus*: A multiple-resistant Brazilian isolate and 339 the costs for its characterization and maintenance for research use. Parasitology 340 International. 62, 1–6.

- Craig, T.M. 1988. Impact of internal parasites on beef cattle. *J. Anim. Sci.* 66: 1565-1569.
- Corona, M.B. 2013. Influencia de la adición de extracto de taninos en la carga por parásitos gastrointestinales y la respuesta productiva de becerros recién llegados al corral de engorda. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Sinaloa. Culiacán, Sinaloa, México.
- Corona, M.B. 2015. Influencia de la adición de extracto de taninos en la carga por nematodos en becerros recién llegados al corral de engorda. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Sinaloa. Culiacán, Sinaloa, México.
- Corona-Palazuelos, M., Murillo-Ayala, E., Castro-del Campo, N., Romo-Rubio, J., 342 Cervantes-Pacheco, B., Gaxiola-Camacho, S., Barajas-Cruz, R. 2016. Influence of 343 tannin extract addition on the amount of nematodes found in feedlot calves at the 344 beginning of the fattening process *Agrociencia*. 50, 1013-1025.
- Dabiri, N. and M.L. Thonney. 2004. Source and level of supplemental protein for growing lambs. *J. Anim. Sci.* 82:3237-3244.
- de Cesaro, M.C., Tvarijonaviciute, A., Tecles, F., Céron, J.J., Eckersall, D.P., Ferreira, J.C., 346 Schdmidt, E.M. 2016. Changes in biochemical analytes in calves infected by 347 nematode parasites in field conditions. *Vet Parasitol.* 219, 1-6. 348
- Eguale, T., D. Tadesse, M. Giday. 2011. *In vitro* anthelmintic activity of crude extracts of five medicinal plants against egg-hatching and larval development of *Haemonchus contortus*. *J. Ethnoph.* 137: 108-113.
- Engstrom, M.T., M. Karonen, J. R. Ahern, N. Baert, . ayr , H. Hoste, and J.P. Salminen. 349 2016. Chemical structures of plant hydrolyzable tannins reveal their in vitro activity 350 against egg hatching and motility of *Haemonchus contortus* nematodes, *J. Agric.* 351 *Food Chem.* 64, 840–851.
- Espinosa-Moreno, J., D. Centurión-Hildago, G. G. Vera y Cuspinera, E. Pérez-Castañeda, C. V. Zaragoza-Vera, S. Martínez-Martínez, P. Mendoza-de-Gives, M. González-Cortázar. 2016. Actividad antihelmíntica *in vitro* de tres especies vegetales utilizadas tradicionalmente en Tabasco, México. *Polibotánica*, 41: 91-100.

- García, E. 1981. Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen. 3ª ed. México D.F.
- Gasbarre, L. C., L. L. Smith, J. R. Lichtenfels, and P. A. Pilitt. 2009. The identification of 357 cattle nematode parasites resistant to multiple classes of anthelmintics in a 358 commercial cattle population in the US. *Vet. Parasitol.* 166, 281-285.
- González-Garduño R., M. E. López-Arellano, N. Ojeda-Robertos, E. Liébano-Hernández, P. Mendoza-de Gives. 2014. Diagnóstico *in vitro* y en campo de resistencia antihelmíntica en nematodos gastrointestinales de pequeños rumiantes. *Arch. Med. Vet.* 46: 399-405.
- Gudev, D., S. Popova-Ralcheva, P. Moneva, M. Bonovska, G. Valchev, G. A. Valcheva. 2004. Effect of supplemental Sangrovit on some biochemical indices and leukocytes phagocytic activity in growing pigs. *Archiva Zootechnica* 7: 19-26.
- Gutiérrez-Amézquita, R.A., Morales-Montor, J., Muñoz-Guzmán, M.A., Nava-Castro K.E., 360 Ramírez-Álvarez H., Cuenca-Verde C., Moreno-Mendoza N.A., Cuéllar-Ordaz J.A., 361 Alba-Hurtado F. 2017. Progesterone inhibits the *in vitro* L3/L4 molting process in 362 *Haemonchus contortus*. *Vet. Parasitol.* 248, 48–53.
- Hicks, C.R. 1973. *Fundamental Concepts in the Design of Experiments*. Holt, Reinhart and Wiston, New York.
- INEGI, 2009. *Anuario Estadístico del Estado de Sinaloa*. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e informática. Aguascalientes, Ags. México.
- Játiva, S.D. 2011. Determinación del contenido de tanino procedente del guarango (*Caesalpinia spinosa*) y evaluación de su uso como fungicida. Tesis de Licenciatura. Escuela Politécnica Nacional. Quito, Ecuador.
- Jankowski, J.; Zdun´czyk, Z.; Jus´kiewicz, J.; Kozłowski, K.; Lecewicz, A.; Jeroch, H., 2009: Gastrointestinal tract and metabolic response of broilers to diets with the *Macleaya cordata* alkaloid extract. *Archiv fur Geflugelkunde.* 73, 95–101.
- Juskiewicz, J., Zdunczyk, Z., Gruzauskas, R., Dauksiené, A., Raceviciūtė-Stupelienė, A. and Totilas, Z. 2013. Comparative effects of dietary phytobiotic (*Macleaya cordata* alkaloid extract) and probiotic (*Pediococcus acidilactici* 18/5 m) preparations as single supplements or in

- combination on fermentative processes in the broiler chickens caeca. VETERINARIJA IR ZQQTECHNIKA (Vet MedZoot). 62: 1392-2130.
- Kamaraj, C., A. A. Rahuman. 2011. Efficacy of anthelmintic properties of medicinal plant extracts against *Haemonchus contortus*. Res. Vet. Sci. 91: 400-404.
- Kosina, P., J. Gregorova, J. Gruz, J. Vacek, M. Kolar, M. Vogel, W.r Roos, K. Naumann, 367 V. Simanek, J. Ulrichova. 2010. Phytochemical and antimicrobial characterization of 368 *Macleaya cordata* herb. Fitoterapia 81, 1006–1012.
- Lei, Q., H. Liu, Y. Peng, and P. Xiao. 2015. In silico target fishing and pharmacological 370 profiling for the isoquinoline alkaloids of *Macleaya cordata* (Bo Luo Hui). Chin Med. 371 10:37 DOI 10.1186/s13020-015-0067-4.
- López, O. A. R. González, M. M. Osorio, E. Aranda, P. Díaz. 2013. Cargas y especies prevalentes de nematodos gastrointestinales en ovinos de pelo destinados al abasto. Rev. Mex. Cienc. Perú 4: 223-234.
- López, S.A. 2008. Engorde de bovinos en feedlot: en búsqueda de alternativas para aumentar rentabilidad. Producir XXI, Bs. As.16: 36-43.
- Liu, H., Tan, M., Zhou L., Yang, H., Ma, Z. and Wang, J. 2009. Inhibitory Activity of the Extracts of *Macleaya cordata*, *Reynoutria japonica* and *Scutellaria baicalensis* on Plant Pathogens. Nat Prod Res Dev 21;400403,419
- Marie-Magdeleine, C., H. Hoste, M. Mahieu, H. Varo, H. Archimede. 2009. *In vitro* effects of *Cucurbita moschata* seed extracts on *Haemonchus contortus*. Vet. Parasitol. 161: 99-105.
- Marie-Magdeleine, C., M. Mahieu, S. D'Alexis, L. Philipert, H. Archimede. 2010. In vitro effects of *Tabernaemontana citrifolia* extracts on *Haemonchus contortus*. Res. Vet. Sci, 89: 88-92.
- Martínez-Ortíz-de-Montellano, C., Arroyo-López, C., Fourquaux, I., Torres-Acosta, J.F.J., 373 Sandoval-Castro, C.A., Hoste, H. 2013. Scanning electron microscopy 374 of *Haemonchus contortus* exposed to tannin-rich plants under in vivo and in 375 vitro conditions. Exp Parasitol. 133, 281–286.
- Min, B.R. and S.P. Hart. 2003. Tannins for suppression of internal parasites. Journal of Animal Science, 81:102-109.

- Ming, Z., H. Ke-long, Z. Jian-guo, L. Shuang, Z. Li. 2010. Determination of contents of 377 eight alkaloids in fruits of *Macleaya cordata* (Willd) R. Br. from different habitats 378 and antioxidant activities of extracts. *J. Cent. South Univ. Technol.* 17, 472–479.
- Monglo, D., L. M. Njongmeta, G. Musongong, M. Ngassoum, E. N. Nukenine. 2006. Evaluation of anthelmintic potential of ethanolic plant extracts from northern Cameroon against eggs and infective larvae of *Haemonchus contortus*. *J. Biol. Sci.*, 6: 426-433.
- Moreno, F.C., I.J. Gordon, A.D. Wright, M.A. Benvenuti, C.A. Saumell. 2010. Efecto antihelmíntico *in vitro* de extracto de plantas sobre larvas infectantes de nematodos gastrointestinales de rumiantes. *Arch Med Vet* 42: 155-163.
- Newton, S. M.; Lau, C.; Gurcha, S. S.; Besra, G. S.; Wright, C. W., 2002: The evaluation of forty-three plant species for in vitro antimycobacterial activities: isolation of active constituents from *Psoralea corylifolia* and *Sanguinaria canadensis*. *Journal of Ethnopharmacology.* 79, 57–67.
- NRC. 2000. *Nutrient Requirements of Beef Cattle (7th Revised Ed.)*. National Academy Press, Washington, D.C.
- Ochoa, A. A., F. R. Mujica. 2015. Actividad letal in vitro del extracto proteico total de *Bacillus thuringiensis* sobre huevos y larvas (L3) infectivas de *Nematodirus Spathinger*. *Rev. Inv. Vet. Perú* 26: 509-518.
- Ortiz, C.M. 2010. Mecanismos de acción de las plantas ricas en taninos sobre la población adulta de nematodos gastrointestinales de los pequeños rumiantes. Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma de Yucatán. Mérida, Yucatán, México.
- Otero, M.J. y L.G. Hidalgo. 2004. Taninos condensados en especies forrajeras de clima templado: efectos sobre la productividad de rumiantes afectados por parasitosis gastrointestinales. *Sitio Argentino de Producción Animal.* 16:1-11.
- Pérez-Pérez, C., M. M. Hernández-Villegas, P. de la Cruz-Burelo, G. I. Hernández-Bolio, G. I. Bolio-López. 2014. Efecto antihelmíntico *in vitro* del extracto metanólico de hojas de *Gliricidia sepium* contra nematodos gastrointestinales de ovinos. *Trop. Subtrop. Agro.* 17: 105-111.

- Pickler, L., Beirão, B. C. B., Hayashi, R. M., Durau, J. F., Lourenço, M. C., Caron, L. F. and Santin, E. 2013. Effect of sanguinarine in drinking water on Salmonella control and the expression of immune cells in peripheral blood and intestinal mucosa of broilers. *J. appl. Poult. res.* 22:430–438
- Quijada J., A. Bethencourt, A. Pérez, I. Vivas y P. Salcedo. 2008. A Distribución y abundancia de los huevos de estrongilos digestivos en bovinos infectados naturalmente. *Rev. MVZ Córdoba* 13:1280-1287.
- Ramos, G., P. Frutos, J. Giráldez, A.R. Mantecón. 1998. Los compuestos secundarios de las plantas en la nutrición de los herbívoros. *Arch. Zootec.* 47: 597-620.
- Rawling, M. D.; Merrifield, D. L.; Davies, S. J., 2009: Preliminary assessment of dietary supplementation of Sangrovit on red tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth performance and health. *Aquaculture* 294, 118–122.
- Rialch, A., S. Vatsya, R. R. Kumar. 2013. Detection of benzimidazole resistance in gastrointestinal nematodes of sheep and goats of sub-Himalayan región of northern India using differents tests. *Vet. Parasitol.* 198: 312-318.
- Rivera, C., A. Plascencia, N. Torrentera, R. Zinn. 2013. Effect of level and source of supplemental tannin on growth-performance of Holstein steers during the late finishing phase. *J. Anim. Sco.* Vol. 91.
- Rodríguez, V. R., J.F. Torres, G. Ramírez, J.A. Rosado, A.J. Aguilar, M.M. Ojeda, M.E y Bolio. 2011. Control de Parásitos internos y externos que afectan al ganado bovino en Yucatán, México. Manual Técnico. Universidad Autónoma de Yucatán. Mérida, Yucatán, México.
- Rodríguez-Vivas, R.I., L. A. Cob-Galera y J.L. Domínguez-Alpizar. 2001. Frecuencia de parásitos gastrointestinales en animales domésticos diagnosticados en Yucatán, México. *Rev. Biomed.* 12:19-25.
- Romero, C.E. 2000. Efecto del pastoreo con ovinos sobre la concentración de taninos condensados en *Gliricidia sepium* (Jacq) Walp en el trópico seco. Tesis de Maestría. Universidad de Colima. Colima, México.
- Solano, V.H. 1997. Efecto de diferentes concentraciones de taninos sobre la flora microbiana ruminal y en la degradabilidad in vitro del forraje de alfalfa. Facultad de Agronomía. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, México.

- Statistix. 2007. Statistix User's Manual, Release 9.0. Analytical Software, Tallahassee, FL.
- Steffan, P. E., C. A. Fiel, D. A. Ferreyra, A. Monfrinotti. 2002. Eficacia del ricobendazole via subcutanea contra los nematodos gastrointestinales del bovino. RIA, 31: 89-101.
- Torres, J., Roberts, B., Canto, J., Martínez, C., Rodríguez, J., Canul, L., Cob, L., Tirado, F., 383 Aguilar, A. 2003. Prevalence of sheep herds with gastrointestinal nematodes resistant 384 to benzimidazoles, imidazothiales and macrocyclic lactones in Yucatan. V 385 International Seminar of Animal Parasitology, Yucatan, Mexico. 74, 48-52.
- Torres, A.J.F., M.A. Alonso, H. Hoste, C.A. Sandoval, A.J. Aguilar. 2008. Efectos negativos y positivos del consumo de forrajes ricos en taninos en la producción de caprinos. Tropical and Subtropical Agroecosystems 9: 83-90.
- Van der Broom, R., Moll, L., Kappert, C., Vellema, P. 2015. Haemonchus contortus 387 resistance to monepantel in sheep. Vet Parasitol. 209, 278-280.
- Varel, V.H., D. N. Miller, E. D. Berry. 2006. Incorporation of thymol into corncob granules for reduction of odor and pathogens in feedlot cattle waste. J. Anim. Sci. 84:481-487.
- Vázquez, A.A., E. Alvaréz, J.A. López, A. Wall, L.A. De la rosa. 2012. Taninos hidrolizables y condensados: naturaleza química, ventajas y desventajas de su consumo. Tecnociencia Chihuahua 6: 84-93.
- Vieira, S. L., Oyarzabal, O. A., Freitas, D. M., Berres, J., Peña, J. E. M., Torres, C. A. and Coneglian, J. L. B. 2008. Performance of Broilers Fed Diets Supplemented with Sanguinarine-Like Alkaloids and Organic Acids. J. Appl. Poult. Res. 17:128–133.
- Waller, P.J., Chandrawathani, P. 2005. Haemonchus contortus: parasite problem No. 1 389 from tropics-Polar Circle. Problems and prospects for control based on epidemiology. 390 Tropical Biomedicine, 22, 131-137.
- Wang, K., Ch. Luo, H. Liu, J. Xu, W. Sun, and L. Zhou. 2012. Nematocidal activity of the 392 alkaloids from Macleaya cordata against certain nematodes. African Journal of 393 Agricultural Research. 7, 5925-5929.

- Windisch, W., Schedle, K., Pitzner, C. and Kroismayr A. 2007. Use of phytogetic products as feed additives for swine and poultry. *J. Anim. Sci.* 86:E140-E148.
- Yao, J., J. Shen, X. Li, Y. Xu, G. Hao, X. Pan, G. Wang, and W. Yin. 2010. Effect of 395 sanguinarine from the leaves of *Macleaya cordata* against *Ichthyophthirius multifiliis* 396 in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Parasitol Res.* 107, 1035–1042.

Cuadro 1

Ingredients	Proportion of diet DM, %
Corn silage	46.10
Corn straw	25.33
Soybean meal (solvent extracted)	16.28
Sugar cane molasses	8.29
Ganamin Total Sinaloa® ¹	2.61
Ganbuffer® ²	1.38
Total	100%
Calculated analyses (dry matter basis) ³	
Crude protein, g/1000 g	152.10
Net energy for maintenance, Mjoules/kg	4.337
Net energy for gain, Mjoules /kg	2.536

¹ Vitamin and Mineral premix (Técnica Mineral Pecuaria, S.A. de C.V. Guadalajara, México)

² Buffer agents blend (Técnica Mineral Pecuaria, S.A. de C.V. Guadalajara, México)

³ Calculated from published values (NASEM, 2016)

Cuadro 2

Item	MCEP, g/day		SEM ¹	P-value
	0	10		
Bull-calves, n	10	10		
Days in trial, n	28	28		
Body weight day 0, kg	230	240	3.455	0.05
Body weight day 28, kg	264	280	4.618	0.03
Average daily gain, kg/day	1.23	1.43	0.121	0.26
Nematodes, eggs/g of feces dry matter				
Day 0	221	127	44.503	0.35
Day 28	113	33	5.447	0.04
<i>Haemonchus sp</i> , eggs/g of feces dry matter				
Day 0	42	47	15.321	0.82
Day 28	48	12	12.362	0.05
<i>Cooperia sp</i> , eggs/g of feces dry matter				
Day 0	125	83	32.167	0.37
Day 28	52	13	10.865	0.03
<i>Trychostrongylus sp</i> , eggs/g of feces dry matter				
Day 0	33	13	8.571	0.12
Day 28	12	7	5.625	0.54

¹ Standard error of the mean

Cuadro 3

<i>MCEP</i> plant preparation level, mg/mL	Mortality, %	
	Mean	Standard error
0.0	0.00	0.000 ^c
2.5	0.00	0.000 ^c
5.0	26.14	16.60 ^{bc}
7.5	61.62	5.959 ^b
10.0	100.00	0.000 ^a

^{a, b, c} Distinct laterals in a same column indicates statistical difference (Tukey, $P < 0.05$).

Cuadro 4

Exposition time	<i>Papaveraceae</i> plant preparation level, mg/mL							SEM ¹	<i>P</i> -value
	0	3.75	7.5	11.25	15.0	25.0	50.0		
2 h	0.0 ^c	0.0 ^c	0.0 ^c	0.0 ^c	0.0 ^c	7.8 ^b	100 ^a	0.594	< 0.01
4 h	0.0 ^d	15.6 ^c	14.4 ^c	13.3 ^c	44.4 ^b	100 ^a	100 ^a	1.260	< 0.01
6 h	0.0 ^d	10.0 ^c	20.0 ^b	20.0 ^b	100 ^a	100 ^a	100 ^a	1.260	< 0.01
24 h	84.4 ^b	90.0 ^{ab}	97.8 ^a	97.8 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a	1.782	< 0.01

¹ Standard error of the mean

^{a, b, c} Distinct laterals in a same row indicates statistical difference.

Figura 1

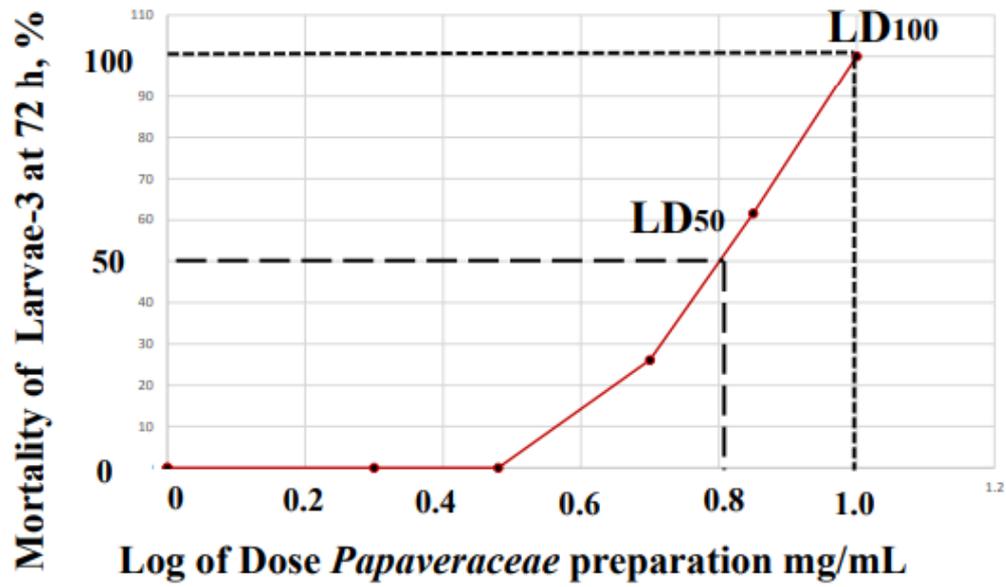


Figura 2

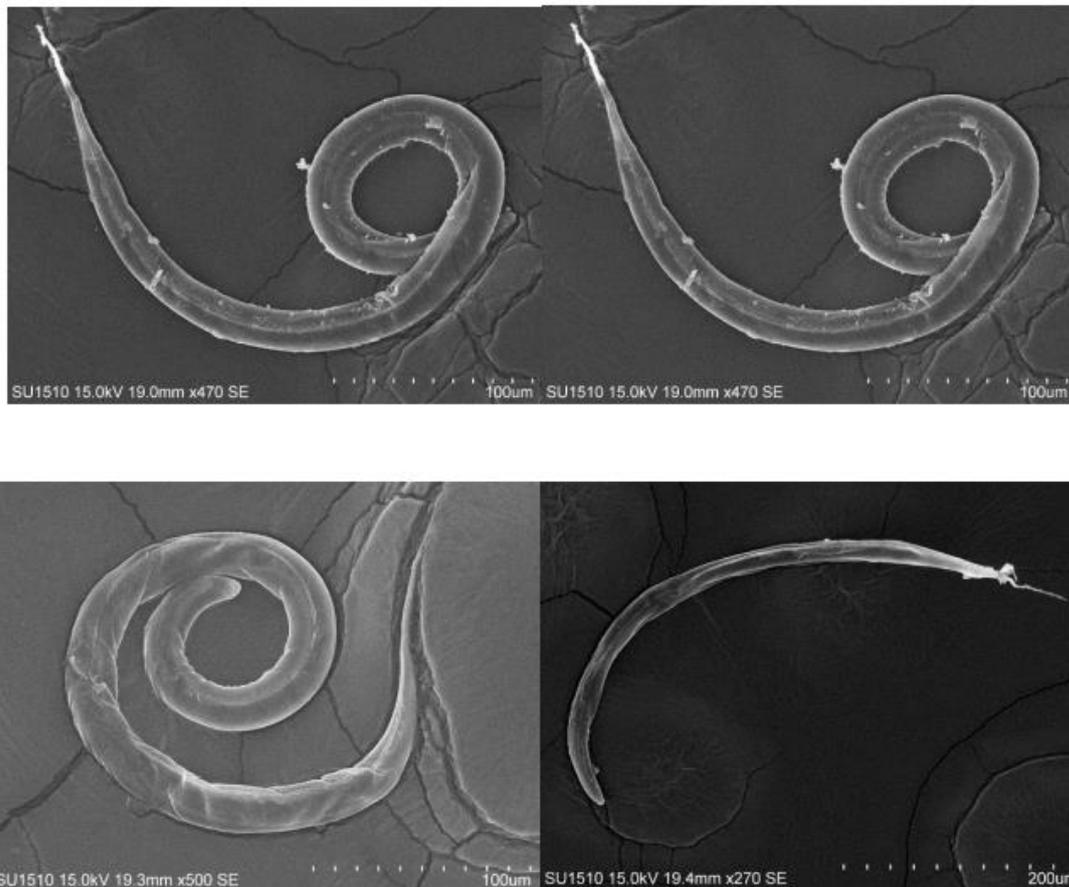


Figura 3

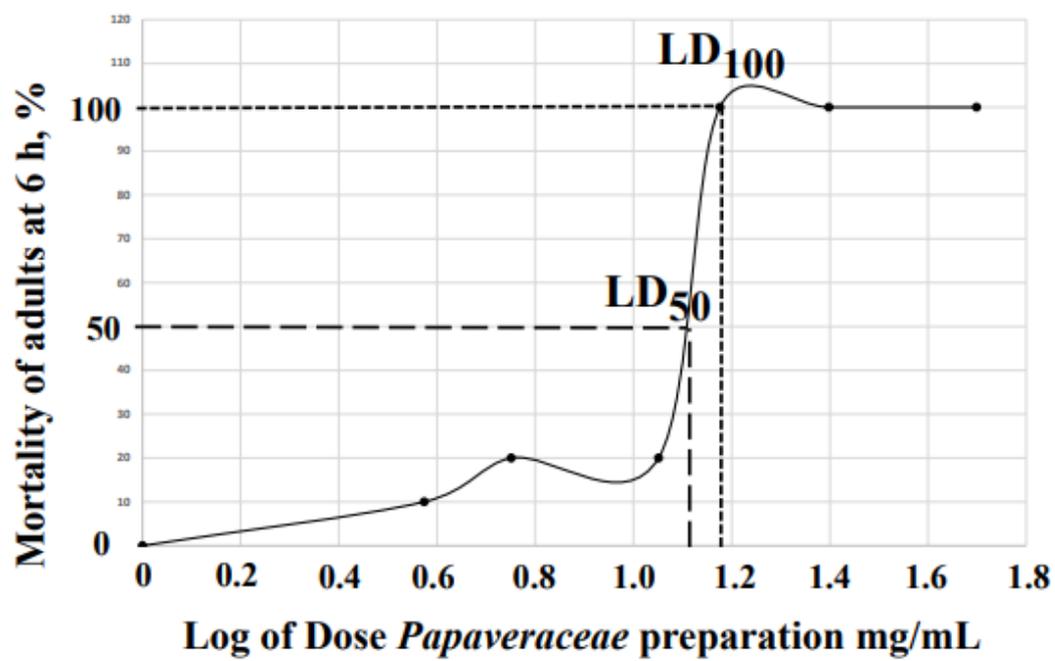
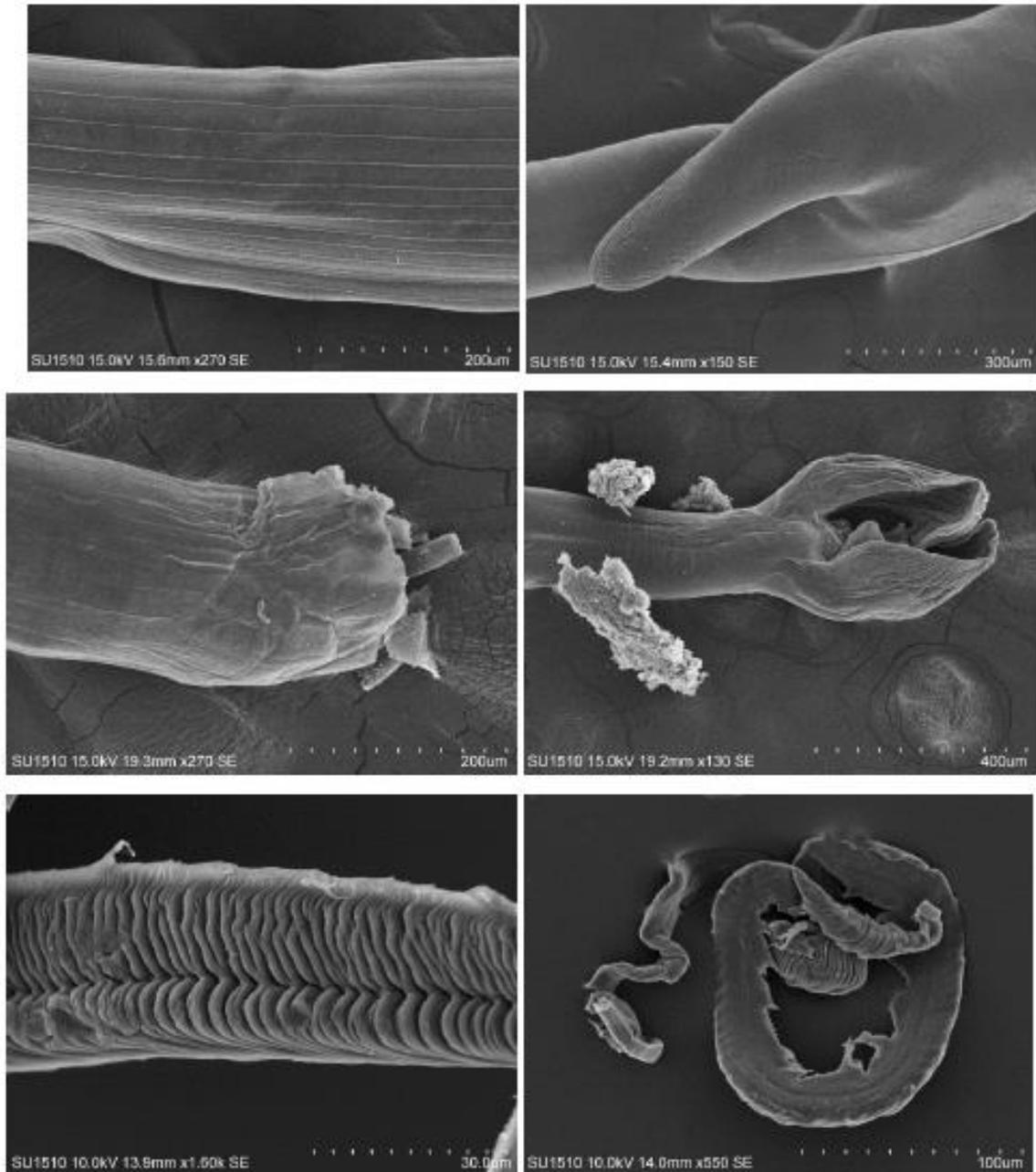


Figura 4



A manuscript number has been assigned: Vetpar-D-20-14547

Recibidos



VETPAR <eesserver@eesmail.elsevier.com>

dom., 2 ago. 7:36
(hace 3 días)

para mí

inglés
español

[Traducir mensaje](#)

[Desactivar para: inglés](#)

Ms. No. Vetpar-D-20-14547

Effect of Papaveraceae plant preparation on Haemonchus spp egg shedding in growing bull-calves, and in vitro mortality of stage-3 larvae and adult forms

Dear Dr. BARAJAS,

Your manuscript has been assigned the following reference number: Vetpar-D-20-14547

You will be able to check the progress of your paper by logging in as Author at <https://ees.elsevier.com/vetpar/>

Please note that submission of an article is understood to imply that the article is original and is not being considered for publication elsewhere. Submission also implies that all authors have approved the paper for release and are in agreement with its content.

For guidelines on how to track your manuscript in EES please go the following address: http://help.elsevier.com/app/answers/detail/p/7923/a_id/89

Thank you for submitting your manuscript to Veterinary Parasitology or its open access mirror.

Kind regards,

Administrative Support Agent
Veterinary Parasitology or its open access mirror

For further assistance, please visit our customer support site at <http://help.elsevier.com/app/answers/list/p/7923> Here you can search for solutions on a range of topics, find answers to frequently asked questions and learn more about EES via interactive tutorials. You will also find our 24/7 support contact details should you need any further assistance from one of our customer support representatives.