

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

INSTITUTO DE CIENCIAS AGRÍCOLAS



USO DE EXTRACTOS VEGETALES PARA EL CONTROL DE
Haemonchus contortus **EN OVINOS**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

PRESENTA

RAMÓN LUCK MONTERO

DIRECTOR DE TESIS

Ph.D. LEONEL AVENDAÑO REYES

MEXICALI, B.C., MÉXICO

MARZO, 2017

**ESTA TESIS FUE APROBADA BAJO LA DIRECCIÓN DEL
CONSEJO PARTICULAR INDICADO, HA SIDO APROBADA POR
EL MISMO Y ACEPTADA COMO REQUISITO PARA OBTENER EL
GRADO DE:**

DOCTOR EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

CONSEJO PARTICULAR



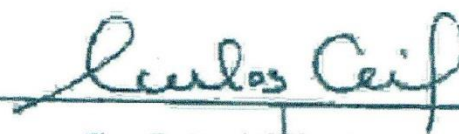
Ph.D. Leonel Avendaño Reyes

Director de tesis



Dr. Ulises Macías Cruz

Co-Director



Dr. Carlos Alf Catzim

Sinodal



Dr. Iván Córdova Guerrero

Sinodal



Dr. Fernando Alberto Muñoz Tenería

Sinodal

AGRADECIMIENTOS

Al Concejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo brindado para la realización de este Proyecto y fomentar la cultura científica en beneficio de la sociedad mexicana y latinoamericana.

A la Universidad Autónoma de Baja California (UABC), especialmente al Instituto de Ciencias Agrícolas (ICA) por abrirme sus puertas y permitir la oportunidad de realizar mis estudios de doctorado.

Al Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá (IDIAP), por aprobar el desarrollo y culminación satisfactoria de los estudios realizados, permitiendo mi superación personal y profesional.

Al recurso humano perteneciente a mi Comité de Tesis, PhD. Leonel Avendaño Reyes, Dr. Ulises Macías Cruz, Dr. Carlos Enrique Aíl Catzim, Dr. Iván Córdova Guerrero, Dr. Fernando Alberto Muñoz Tenería, por sus meritorias aportaciones y consejos durante el desarrollo de este trabajo.

A todo el personal administrativo, técnicos y estudiantes por su gran colaboración, apoyo y amistad durante estos años.

Al Dr. Javier Arece García, Investigador de la Estación Experimental de Pastos y Forrajes, Indio Hatuey, Cuba, por su gran colaboración, consejos, docencia y amistad.

Al Dr. Jorge Alfredo Cuéllar Ordáz, Director de la Facultad de Estudios Superiores, Universidad Nacional Autónoma de México, por su valioso aporte, compartir sus conocimientos, experiencias y su amistad.

Al Dr. Manases González Cortázar, por su disponibilidad en ayudarme en todos los momentos que le solicite su apoyo, y por compartir siempre su valioso conocimiento.

DEDICATORIAS

Al Todopoderoso por permitir la realización de este magno proyecto.

A mi esposa, Barda Raquel Irene, por su ayuda, colaboración y compañía durante mis estudios.

A mi Mamá, Nidia, por su apoyo incondicional, amor y consejos, ayudándome con sus oraciones para estar con salud y bienestar estando lejos de casa.

A mi Papá, Ramón (q.e.p.d.), por enseñarme a trabajar, valorar las cosas, y por su gran alegría y entusiasmo al informarle de mis estudios; y agradezco porque me sigue apoyando desde donde está.

A mis queridos hermanos, Daniel Enrique (q.e.p.d), Gume, Ceci, Rosi, Mony, Lourdes, Chely y Javier por ayudarme en todo lo que he necesitado, darme ánimo y consejos.

A mis sobrinos que son parte de mi Familia, a todos y cada uno de ustedes, los quiero mucho.

A todos y cada uno de mis familiares que han sido parte importante en mi vida.

A mis amigos que de una u otra forma, han colaborado en mi formación profesional.

INDICE TEMÁTICO

INDICE DE TABLAS.....	VII
INDICE DE FIGURAS.....	VII
INDICE DE CUADROS.....	VII
RESUMEN.....	VIII
ABSTRACT.....	IX
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
2.1. Localización anatómica de NGI en pequeños rumiantes.....	4
2.1.1. Morfometría de <i>Haemonchus contortus</i>	4
2.2. Resistencia antihelmíntica.....	5
2.2.1. Métodos para la medición de resistencia antihelmíntica.....	10
2.3. Resiliencia.....	10
2.4. Respuesta inmunológica.....	11
2.5. Compuestos bioactivos en plantas.....	12
2.5.1. Clasificación.....	12
2.5.2. Disolventes y extracción.....	13
2.6. Efecto antihelmíntico de los compuestos bioactivos.....	17
2.7. Criterios para seleccionar plantas con propósitos antiparasitarios.....	19
III. ARTÍCULO 1	
ACTIVIDAD OVICIDA Y LARVICIDA DE EXTRACTOS ACUOSOS DE <i>Pluchea sericea</i> Y <i>Artemisia tridentata</i> EN <i>Haemonchus contortus</i>	21
3.1. Resumen.....	22
3.2. Abstract.....	22

3.3. Introducción.....	23
3.4. Materiales y Métodos.	24
3.5. Resultados y discusión.	27
3.6. Conclusiones.	30

IV. ARTÍCULO 2

Haemonchus contortus: PATOGENIA, RESISTENCIA Y EFECTO ANTIHELMÍNTICO DE COMPUESTOS BIOACTIVOS EN PLANTAS

4.1. Resumen.....	35
4.2. Abstract.	36
4.3. Introducción.	37
4.4. Patogenia de <i>Haemonchus contortus</i>	38
4.5. Antecedentes de resistencia a fármacos y uso de productos naturales.....	39
4.6. Modo de acción de taninos condensados.....	44
4.7. Modo de acción de flavonoides.....	46
4.8. Modo de acción de saponinas.....	47
4.9. Modo de acción de terpenos.....	48
4.10. Conclusiones.....	59

V. CONCLUSIONES GENERALES.....61

VI. LITERATURA CITADA.....61

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Aporte cronológico a la fitoterapia para el nematodo gastroentérico <i>Haemonchus contortus</i> (Hc) en ovinos y caprinos.....	41
--	----

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Porcentaje de inhibición de eclosión de huevos de <i>H. contortus</i> expuestos a 5 concentraciones de extractos acuosos de <i>P. sericea</i> y <i>A. tridentata</i>	31
---	----

Figura 2. Porcentaje de mortalidad de larvas (L ₃) de <i>H. contortus</i> expuestas a cinco concentraciones de extractos acuosos de <i>P. sericea</i> y <i>A. tridentata</i>	33
---	----

Figura 3. Porcentaje de inhibición de eclosión de huevos a diferentes concentraciones de extractos vegetales (mg mL ⁻¹).....	58
---	----

Figura 4. Porcentaje de mortalidad de L ₃ y extracto de planta en mg mL ⁻¹	59
---	----

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Concentración letal media (CL ₅₀) para la inhibición de eclosión de huevos <i>H. contortus</i> expuestos a extractos acuosos de <i>P. sericea</i> y <i>A. tridentata</i>	32
---	----

Cuadro 2. Concentración letal media (CL ₅₀) para mortalidad de larvas L ₃ expuestas a diferentes concentraciones de extractos acuosos de <i>P. sericea</i> y <i>A. tridentata</i>	34
---	----

RESUMEN

El propósito de este estudio fue presentar el uso de compuestos bioactivos (metabolitos secundarios) de diversas plantas como alternativa para el control de *Haemonchus contortus*. Se describe este nematodo, su importancia económica, sus características anatómo-fisiológicas, así como también su ciclo de vida dentro y fuera del huésped. Se expone un listado de plantas con propiedades antihelmínticas, ovicida y larvicida, así como también los resultados obtenidos de cada bioensayo. Se presentan resultados de ensayos *in vitro* con extractos de *Pluchea sericea* y *Artemisia tridentata*, plantas de la región árida del estado de Baja California, México, registrando en la inhibición de eclosión de huevos una concentración letal (CL₅₀) de 23.21 y 23.26 mg mL⁻¹ en 24 horas, respectivamente; mientras que en mortalidad larval, una CL₅₀ de 20.36 y 27.18 mg mL⁻¹, respectivamente. Se concluye que el uso de extractos de plantas con actividad antiparasitarias brinda una alternativa viable, inocua y sustentable sobre la resistencia antiparasitaria contra *Haemonchus contortus*.

ABSTRACT

The aim of this work was to describe the use of bioactive compounds (secondary metabolites) of several plants as an alternative for the control of *Haemonchus contortus*. This nematode is described, its economic importance, its anatomo-physiological characteristics as well as its life cycle inside and outside the host. A list of plants with anthelmintic, ovicidal and larvicidal properties is presented, as well as the results obtained from each bioassay. In addition, *in vitro* tests were carried out using *Pluchea sericea* and *Artemisia tridentata*, plants from the arid region of the state of Baja California, México, obtaining very encouraging data, and registering the inhibition of hatching of eggs, a lethal concentration (LC₅₀) of 23.21 and 23.26 mg mL⁻¹ in 24 hours, respectively; and in larval mortality, a LC₅₀ of 20.36 and 27.18 mg mL⁻¹, respectively. It is concluded that the use of extracts of plants with antiparasitic activity provides a viable, safe and sustainable alternative over antiparasitic resistance against *Haemonchus contortu*

I. INTRODUCCIÓN

Los endoparásitos y ectoparásitos de los rumiantes domésticos contribuyen en forma directa e indirecta a reducir la sostenibilidad que afecta a la seguridad alimentaria en los sistemas agrícolas de subsistencia o de pequeña escala, la inocuidad de los alimentos (enfermedades transmitidas por alimentos y residuos de plaguicidas) y el medio ambiente (insecticidas, contaminación y ecotoxicidad). Esto ocurre en varias regiones de América Latina donde todavía existen enormes áreas de pastizales naturales para ganado, ovejas y cabras. El control de parásitos sostenible no es un concepto absoluto dadas las diferentes regiones y sistemas productivos del mundo y, por lo tanto, podría tener diferentes niveles de adopción e impacto en los agricultores (Nari, 2011).

La excelente prolificidad, adaptabilidad y resistencia a numerosas condiciones climáticas permiten que los nematodos gastrointestinales ostenten una amplia distribución geográfica, tanto en regiones de clima tropical como templado. Sin embargo, la contaminación ambiental está influenciada por las condiciones climáticas y el *Hamonchus contortus* desarrolla respuestas fisiológicas de manera que puede maximizar la infección (Díaz-Anaya et al., 2014). La identificación correcta de diversas especies, así como el conocimiento de la epidemiología y caracterización genética de las principales especies circulantes es esencial para el establecimiento de estrategias de control sostenibles (Akkari et al., 2013). La necesidad de nuevos agentes antihelmínticos, más efectivos y con menor impacto en el ambiente se vuelve urgente. La fitoterapia es un método alternativo para controlar los nematodos gastrointestinales en pequeños rumiantes (Qi et al., 2015), por lo que la búsqueda de antihelmínticos vegetales representa una atractiva alternativa para resolver este problema, ya que tiene ventajas económicas, así como ventajas relacionadas con la eficacia farmacológica y la toxicidad para animales y humanos (Ferreira et al., 2016). Los antiparasitarios comerciales han sido la principal herramienta para controlar los parásitos, pero debido al desarrollo de la resistencia, extractos de plantas han sido ampliamente investigados para encontrar nuevas moléculas (Castilho et al., 2017).

Este trabajo desarrolla un marco conceptual para el mejor entendimiento del comportamiento del nematodo *H. contortus* y brindar la capacidad de dar prioridad a las especies de plantas disponibles con propiedades antihelmínticas, permitiendo un manejo en

el control de la resistencia de los parásitos, así como las técnicas disponibles para producir extractos vegetales que adquiere un papel importante. Hasta que se disponga de medios nuevos y diferentes para controlar los parásitos; el desafío consiste en utilizar los principios de buenas prácticas de ganadería y gestión integrada de los parásitos de una manera pragmática que permita el uso racional de los antiparasitarios.

El costo económico en México de los daños por *H. contortus* incluye las condiciones geográficas, el tipo de manejo, edad, raza y sexo de los ovinos. El efecto de las parasitosis gastroentéricas puede volverse más severa, dando lugar a una notable merma en la productividad de las ovejas por atraso en el crecimiento y pubertad, reducción en las ganancias de peso de hasta 50% y mortalidades que oscilan entre 20 a 50%. Se ha estimado que en Estados Unidos la infección por parásitos en rumiantes es uno de los principales problemas y las pérdidas ascienden a más de 3 billones de dólares por año, de las cuales las pérdidas relacionadas con la ovinocultura se han estimado en más de 60%. El impacto económico de las parasitosis gastrointestinales en la crianza de ovinos en Australia se ha calculado en 8.7% de los costos de producción anuales (Luna-Palomera et al., 2010).

Las pérdidas económicas por los NGI son consecuencia de un declive en la producción, el precio de la prevención, gastos de los tratamientos y la muerte de los animales infectados (Aguilar-Caballero et al., 2008). Aguilar et al. (2011) reportan en estudios en caprinos, que generalmente los animales adultos exhiben una enfermedad de tipo subclínico, trayendo como resultado grandes pérdidas económicas a largo plazo. En estos rumiantes los procesos son generalmente crónicos, donde hay pérdida de condición corporal, los animales se encuentran aletargados con pérdidas de peso inadvertidas, descenso del hematocrito (con valores de 15 al 25%), el edema facial puede o no estar marcado, se puede observar diarrea intermitente, emaciación e inapetencia. En ocasiones ocurre la muerte de los animales. La enfermedad se produce por infección crónica de una cifra marcadamente baja de parásitos gastrointestinales.

Estudios realizados en la Patagonia demostraron que en ambiente de reducida contaminación existe un impacto del control parasitario sobre la producción de lana y largo del vellón, como también en peso y conformación del cordero a la faena. Las pérdidas totales en producción variaron entre el 15 y 20% según la explotación, el grado de infección

y la contaminación de las pasturas (Bulman, 2012). El ganado ovino que se produce en pastoreo conserva una relación directa con el ambiente, lo que ocasiona que surjan enfermedades parasitarias causadas por nematodos gastrointestinales. Estas patologías instituyen la principal causa de pérdidas económicas en América Latina y otras regiones pecuarias del trópico y subtropical del mundo (Medina et al., 2014).

Las infecciones por *H. contortus* son de importancia económica, no solo por ocasionar muertes directas, sino por sus efectos negativos sobre la producción de carne, leche y lana, principalmente. Este efecto depende de las acciones patógenas de los parásitos gastrointestinales que influyen directamente sobre los valores hemáticos, haciéndose muy evidentes en la hemoglobina (Hb) y el hematocrito (Hto) de los ovinos, lo que provoca anemia, anorexia, pérdida de peso, depresión y muerte (Díaz-Anaya et al., 2014).

Gregory et al. (2015) afirman que *H. contortus* es el parásito más importante desde el punto de vista económico de ovejas y cabras en gran parte de los Estados Unidos y el mundo, dada la severidad del parasitismo y la resistencia antihelmíntica emergente. El aumento de las infecciones con *H. contortus* en granjas ovinas en todo el mundo, así como la aparición de cepas, se ha convertido en un problema importante de la medicina veterinaria y la zootécnica. El comercio mundial de medicamentos antiparasitarios veterinarios mueve miles de millones de dólares cada año y las consecuencias de este problema van más allá de los costos de manejo de animales, debido a que el uso de medicamentos pueden dar lugar a la aparición de residuos tóxicos en la carne y la leche de los rumiantes, con efectos negativos sobre la salud humana (Ferreira et al., 2016).

Con base en este planteamiento, los objetivos de la presente disertación fueron:

- a) Recopilar y revisar literatura sobre plantas con actividad ovicida y larvicida sobre *H. contortus*, discutiendo los efectos de diversos compuestos bioactivos sobre el este parásito.
- b) Determinar efectividad contra *H. contortus* de dos plantas nativas del estado de Baja California con propiedades antihelmínticas, realizando ensayos *in vitro*.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

El control sostenible de parásitos debe basarse en la gestión integrada de parásitos utilizando un enfoque interdisciplinario (Karlsson y Greeff, 2012). Los nematodos son gusanos redondos no segmentados que se encuentran en el suelo, el medio acuático, las plantas o en los animales. Tanto útiles como patógenos, influyen en gran medida en el equilibrio ambiental, la salud humana y animal, así como en la producción vegetal. Los conocimientos sobre su taxonomía y biología son puntos claves para responder a los diferentes desafíos asociados a estos organismos. Hoy en día, la mayor parte de la taxonomía del nematodo sigue siendo desconocida o poco clara. Existen varios enfoques para la identificación de parásitos, desde las técnicas tradicionales basadas en morfología hasta las sofisticadas tecnologías de secuenciación de alto rendimiento. Todas estas técnicas tienen ventajas o inconvenientes dependiendo del origen de la muestra y del número de nematodos a procesar (Seesao et al., 2016).

2.1. Localización anatómica de NGI en pequeños rumiantes.

Los principales nematodos gastroentéricos que afectan a los pequeños rumiantes de acuerdo a su ubicación dentro del huésped son: abomaso (*Haemonchus*, *Trichostrongylus* y *Teladorsagia*), intestino delgado (*Trichostrongylus*, *Nematodirus*, *Cooperia*, *Bunostomum* y *Strongyloides*), ciego (*Trichuris* y *Skrjabinema*) y colon (*Oesophagostomum* y *Chabertia*) (González et al., 2011; Meling et al., 2013). Cambios reportados en la epidemiología y el fracaso en el control se están realizando cada vez con mayor frecuencia, donde la principal fuerza motriz percibida es el cambio climático, que puede ejercer efectos profundos en la epidemiología del parásito, especialmente en aquellas enfermedades parasitarias donde el clima afecta directamente al desarrollo de las etapas de vida libre como L₁ y L₂ (Taylor, 2012).

2.1.1. Morfometría de *Haemonchus contortus* hembras y machos

Existe información referente a medidas de *H. contortus* en animales domésticos tomadas en diferentes regiones del mundo cuyos autores registran cifras muy similares en sus estudios.

Para efectos de clasificación en la morfometría de hembras, González-Garduño et al. (2013) tomaron en cuenta las medidas de distintas partes del organismo del nematodo, como son la longitud del cuerpo, que tiene un promedio de $21.5 \mu\text{m}$, con desviación estándar (DE) de $\pm 3 \mu\text{m}$. En el extremo anterior o craneal del nematodo, la papila cervical mide $452 \pm 34 \mu\text{m}$. El esófago mide $1450 \pm 53 \mu\text{m}$. En el extremo posterior del nematodo, la longitud del esfínter anterior mide $181 \mu\text{m} \pm 11 \mu\text{m}$; el vestíbulo: $175 \pm 14 \mu\text{m}$; vagina: $96 \pm 14 \mu\text{m}$; esfínter posterior $177 \pm 26 \mu\text{m}$; distancia cola-ano $444 \pm 9 \mu\text{m}$; cola-vagina $3639 \pm 230 \mu\text{m}$; cola-vulva $515 \pm 55 \mu\text{m}$. En machos, la medida sobre la longitud del cuerpo es $13.9 \pm 1.7 \mu\text{m}$. En el extremo anterior se localiza la papila cervical con $364 \pm 35 \mu\text{m}$; el esófago: $1220 \pm 129 \mu\text{m}$. En el extremo posterior, las espículas: $405 \pm 18 \mu\text{m}$; gancho derecho: $39.8 \pm 2.7 \mu\text{m}$ y gancho izquierdo: $21.0 \pm 1.7 \mu\text{m}$ (González-Garduño et al., 2013). En otros países como la India, Pakistán, China, con población de pequeños rumiantes elevada, se han encontrado longitudes similares a las anteriormente reportadas (Kuchai et al., 2012).

2.2. Resistencia antihelmíntica.

La resistencia antihelmíntica ha sido definida como la capacidad heredable de la población parasitaria de reducir su susceptibilidad a la acción de una o más drogas. Esta reducción se expresará en un incremento significativo de individuos dentro de una misma población de parásitos, capaces de tolerar dosis de droga que han probado ser letales para la mayoría de los individuos de la misma especie (Bulman, 2012). Esto puede ser el resultado de una transformación genética o de un aumento en la frecuencia de expresión de un carácter hereditario, pero en ambos casos los nematodos que sobreviven al tratamiento van a transmitir estos alelos resistentes a su descendencia (Anziani y Fiel, 2015).

La utilización de varios medicamentos a la vez puede ser un recurso transitorio, sin embargo, el problema de resistencia se desarrolla rápidamente, y una vez que se establece para ambos antihelmínticos causa lo que se conoce como resistencia múltiple. El aumento de la dosis es un asunto que se ha realizado para el control de nematodos en poblaciones con alto índice de resistencia, pero también representa un gran problema al producir otro tipo de mutaciones múltiples que consigan estar fuera de control en los esquemas de salud animal (González-Garduño et al., 2014).

El conjunto de técnicas no-químicas utilizables hoy en día no es capaz de reemplazar totalmente a las drogas, por lo que dilatar su "vida útil" es una necesidad inaplazable para el productor pecuario, los gobiernos y la industria farmacéutica. La experiencia indica que se requiere de forma inminente de una exploración conjunta y multidisciplinaria que utilizando aspectos moleculares fármaco-parasitológicos, permita perfeccionar el uso de los compuestos disponibles, y estar más pendiente sobre el fenómeno de la resistencia parasitaria y su diagnóstico prematuro (FAO, 2003).

Muchos nematodos parasitarios de importancia veterinaria tienen características genéticas que favorecen el desarrollo de la resistencia antihelmíntica, lo que se convierte en una limitación mundial importante en la producción de pequeños rumiantes. El desarrollo de resistencia antihelmíntica representa una gran amenaza para la producción y el bienestar futuros de las ovejas en pastoreo, como el incremento de grados variables de resistencia entre diferentes especies de nematodos gastrointestinales para todos los grupos principales de fármacos antihelmínticos. La detección fiable de la resistencia es importante con el fin de diseñar estrategias apropiadas para controlar y retrasar el desarrollo de la resistencia (Toro et al., 2014). El mantenimiento de los parásitos en los refugios y no expuestos a los antihelmínticos parece ser un punto clave porque los genes susceptibles se conservan. Ninguno de los métodos no químicos para el control de parásitos, es decir, la nutrición, vacunas, razas resistentes al parásito, es suficientemente eficaz sin apoyo antihelmíntico y, por lo tanto, no ofrece una opción práctica. Sin embargo, la mayoría de ellos reducen la dependencia en el uso de productos químicos y son respetuosos con el medio ambiente. Se requiere investigación extensa para manejar la resistencia y la evaluación de campo de cualquier sugerencia de control (Papadopoulos, 2008).

Los niveles de infestación parasitaria por estróngilos digestivos hematófagos se correlacionan negativamente con parámetros hematológicos como el valor del hematocrito, por consiguiente, la medida de este parámetro hematológico puede ser utilizada como un indicador indirecto de la resistencia a la infestación parasitaria, principalmente en aquellas explotaciones en las que estén presentes especies parásitas hematófagas como el *H. contortus* (Morales et al., 2010). Otras técnicas para realizar pruebas de resistencia y ser

detectada en forma práctica, han sido las pruebas *in vitro* y la prueba de reducción del conteo fecal de huevos de nematodos (PRCFH) (González-Garduño et al., 2014).

El control antiparasitario ha sido manejado con el uso frecuente de antihelmínticos, y éstos han originado que con el tiempo los nematodos hayan desarrollado resistencia a los tres principales grupos de antihelmínticos disponibles comercialmente: benzimidazoles, imidazotiazoles y lactonas macrocíclicas, aunque actúan por diferentes mecanismos de acción, han perdido su efectividad, desarrollándose graves problemas de resistencia lateral y múltiple a nivel mundial (González et al., 2010).

Existe un acuerdo general de que los enfoques basados en refugios son esenciales para el manejo efectivo de la resistencia a antihelmínticos, y las investigaciones han confirmado el potencial de una variedad de estrategias de implementación. Sin embargo, incluso cuando los propietarios de ganado están convencidos de la necesidad de una gestión antihelmíntica sostenible, se deben considerar varios factores para que estos conceptos se desarrollen en recomendaciones y lograr una amplia aceptación. En particular, existe un riesgo evidente de parasitismo excesivo en el que las poblaciones de parásitos que podrían eliminarse con el tratamiento antihelmíntico convencional se dejan permanecer deliberadamente. Estrategias validadas requieren proporcionar niveles de refugio con un riesgo mínimo e incorporan medidas de monitoreo apropiadas para diferentes ambientes y sistemas de producción animal. La variación en la resiliencia a los efectos de las infecciones por gusanos en los animales dentro de un grupo proporciona una base sólida para los enfoques de refugios que muestran indicaciones de que cuando los antihelmínticos tienen alta eficacia inicial, un número relativamente pequeño de animales necesitan ser dejados sin tratar para lograr la dilución efectiva de los parásitos resistentes. Algún esfuerzo adicional, y posiblemente el costo, más allá de los regímenes de control de parásitos existentes son a menudo necesarios, tanto para la identificación de los tolerantes a los parásitos y para la vigilancia del gusano, las cargas y sus efectos. La frecuencia de observación de los animales es factible en diferentes situaciones y en gran medida determinará el enfoque de refugios más adecuado. Menos reconocido es el atractivo potencial de reducción de los costes de tratamiento y esfuerzo, aunque sustancial en

algunos casos, y un factor positivo para lograr la adopción amplia de una gestión antihelmíntica adecuada (Besier, 2012).

Los genes β - tubulina de nematodos parasitarios son de particular interés porque son los objetivos de los fármacos de benzimidazol. Sin embargo, a pesar de esto, la familia completa del gen β -tubulina no se ha caracterizado para ningún nematodo parásito hasta la fecha. *H. contortus* es la especie de parásito para la cual entendemos mejor la resistencia al benzimidazol y su estrecha relación filogenética con *Caenorhabditis elegans* permite potencialmente inferencias de función génica mediante análisis comparativo. Consecuentemente, se ha caracterizado la familia completa del gen β -tubulina en *H. contortus*. Además de los genes Hco-tbb-iso-1 y Hco-tbb-iso-2 previamente identificados, hemos caracterizado dos miembros adicionales de la familia denominados Hco-tbb-iso-3 y Hco-tbb-iso-4. Mostramos que Hco-tbb-iso-1 no es un ortólogo uno-a-uno con Cel-ben-1, el único gen de β -tubulina en *C. elegans* que es un objetivo de fármaco de benzimidazol. En cambio, tanto Hco-tbb-iso-1 y Hco-tbb-iso-2 tienen una compleja relación evolutiva con tres genes β -tubulina de *C. elegans*: Cel-ben-1, Cel-tbb-1 y Cel-tbb-2. Además, mostramos que tanto Hco-tbb-iso-1 como Hco-tbb-iso-2 están altamente expresados en gusanos adultos; en cambio, Hco-tbb-iso-3 y Hco-tbb-iso-4 se expresan sólo a niveles muy bajos y son ortólogos a los genes Cel-mec-7 y Cel-tbb-4 respectivamente, lo que sugiere que tiene una función especializada. De hecho, hemos encontrado que el patrón de expresión de Hco-tbb-iso-3 en *H. contortus* es idéntico al de Cel-mec-7 en *C. elegans*, expresándose en sólo seis neuronas "sensibles al tacto" mecánico-sensoriales. Estos resultados sugieren que la investigación adicional se justifica en la participación potencial de strongylid isotipo-2 β -tubulina genes en mecanismos de benzimidazol resistencia (Saunders et al., 2013).

La vertiginosa propagación de NGI resistentes a nivel mundial ha puesto en riesgo la sustentabilidad de las acciones de control, debido a la demora en la conversión de poblaciones resistentes a susceptibles mediante el manejo (González-Garduño et al., 2014).

Un haplotipo dyf-7 causa defectos neuronales sensoriales y se asocia con la resistencia a la lactona macrocíclica en todo el mundo en el nematodo parásito *H. contortus* (Urdaneta-Márquez et al., 2014).

La resistencia antihelmíntica de los nematodos gastrointestinales es uno de los factores de riesgo económicos más importantes en los sistemas de rumiantes de pastoreo en todo el mundo. Tenemos información muy escasa sobre el estado de resistencia de los nematodos en especies de ciervos. En esta investigación, nuestro objetivo fue determinar la presencia de resistencia a la BZ en el gusano *H. contortus* en ovejas pastoreadas y en ciervos rojos y de ciervo por el método RFLP-PCR basado en la detección del polimorfismo de un solo nucleótido Phe200Tyr. El genotipo homocigótico fue el más representativo en el ciervo (100%), el genotipo homocigótico resistente fue el más prevalente en ovinos (68.6%) y moderado en el ciervo (17.1%), mientras que el genotipo heterocigoto se observó en proporción igual en los ovinos y corzos (28.6%). Nuestros resultados sugieren que la superposición de los hábitats de los rebaños de ovejas y corzos puede contribuir a la aparición y propagación de alelo resistente dentro de la vida silvestre (Nagy et al., 2017).

A consecuencia de la eficacia de los antihelmínticos disponibles en el mercado, aunado a la complicación de manejar otras metodologías de control, los productores basan toda su táctica antiparasitaria en el uso indiscriminado y continuo del recurso químico. Como secuela de este manejo y la aplicación de tácticas desacertadas, se ha beneficiado el desarrollo de resistencia a los antihelmínticos. Esta situación despertó la motivación a investigar la resistencia de diferentes géneros parasitarios gastroentéricos a las variadas moléculas utilizadas por productores del sureste de México. De tal manera, podemos afirmar que en el Estado de Yucatán, *Haemonchus contortus* y *Trichostrongylus* ha tomado resistencia contra benzimidazoles y lactonas macrocíclicas. En Huimanguillo y Teapa, Tabasco, *H. contortus*, *Teladorsagia*., *Cooperia* y *Oesophagostomum*, resisten la aplicación de benzimidazoles. En Centla, Tabasco, *H. contortus*, *Teladorsagia* y *Cooperia*, a benzimidazoles y lactonas macrocíclicas. En Centro y altos de Chiapas, se reporta resistencia de *H. contortus* y *Teladorsagia* a benzimidazoles, imidatiазoles y lactonas macrocíclicas. En el Centro de Tabasco, se reporta resistencia a benzimidazoles, imidatiазoles y lactonas macrocíclicas de *H. contortus* y *Trichostrongylus*. En la región de San Fernando, Chiapas, la investigación concluye con resistencia a benzimidazoles, imidatiазoles y lactonas macrocíclicas de *H. contortus*, *Trichostrongylus* y *Teladorsagia*.

En Jalapa Centro y Cunduacán, Tabasco, se anotó resistencia contra los antiparasitarios anteriores en *H. contortus*, *Trichostrongylus* y *Oesophagostomum* (Medina et al., 2014).

2.2.1. Métodos para medición de resistencia antihelmíntica

La resistencia a los benzimidazoles (BZs) en los nematodos triclostrogylóides es un problema mundial para la producción pecuaria, principalmente en relación con los pequeños rumiantes. Son necesarios métodos sensibles y confiables para evaluar el estado de resistencia a antihelmínticos. Los métodos actualmente disponibles para la detección de la resistencia a BZ pueden dividirse en tres grupos principales, *in vitro* (ensayo de incubación de huevos), *in vivo* (prueba de reducción de recuento de huevos fecales) y pruebas moleculares. Tres polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) en el gen β -tubulina del isotipo-1 de varias especies de nematodos se correlacionan con la resistencia a BZ. Aunque se han reportado métodos basados en PCR para los tres nematodos de ovejas más importantes desde el punto de vista económico: *Trichostrongylus*, *Haemonchus* y *Teladorsagia*; los ensayos de pirosecuencia sólo están disponibles hasta ahora para los dos últimos (Ramünke et al., 2016).

2.3. Resiliencia

Resiliencia, es la habilidad del animal de mantener niveles productivos aceptables aun hospedando altas cargas parasitarias (Morales et al., 2010). La evidencia disponible indica que, mientras que las ovejas, que evolucionaron como "herbívoros", tienen una prioridad para montar una respuesta inmune contra el reto de GIN, las cabras como "navegadores", tienen una menor dependencia de la respuesta inmune. Se ha sugerido que hay un "costo" para la respuesta inmune hacia patógenos y que la inmunidad podría afectar la productividad. Al priorizar los nutrientes para la respuesta inmune, los ovinos podrían reducir los disponibles para la resiliencia (Hoste et al., 2008).

El creciente interés en la interacción huésped-parásito se implica mejorar la resiliencia del huésped y / o la resistencia a la infección a través del manejo de prácticas

mediante la manipulación de nutrientes y sobre todo la salud nutricional del huésped. La implicación de los cambios en la resistencia del huésped con el estado nutricional para la productividad del anfitrión necesita ser más estudiados. Comprender el papel de la nutrición en la mejora de la resistencia y la resistencia del huésped a los parásitos GI; por lo tanto, las futuras estrategias deberían estar dirigidas a i) estudios sistemáticos para establecer un mecanismo regulador teniendo en cuenta las dietas terapéuticas destinadas a mejorar la nutrición del huésped, la interrelación nutrición-parasitismo, ii) El papel de los aminoácidos, vitaminas y micronutrientes en relación con la resiliencia / resistencia del huésped, iii) La interacción fármaco-nutriente para mejorar la eficiencia terapéutica, iv) La exploración de los componentes bioactivos de las plantas contra el parasitismo y v) Forraje y/o estrategias de manejo de pastizales para reducir la carga de parásitos (Ingale et al., 2010). La suplementación alimenticia es el instrumento más práctico para que las ovejas mejoren su resiliencia, e incluso resistencia, contra los parásitos gastroentéricos en el corto plazo (Castelán et al., 2012).

El control de *H. contortus* en la finca requiere una vigilancia a corto plazo y el monitoreo, y la planificación a más largo plazo, a través de programas de control que involucren el uso de animales con resistencia superior a nematodos o resiliencia. Para los primeros, y a pesar de su falta de sensibilidad y correlación con las cargas de los gusanos, el bajo costo de un conteo de reducción de huevos en heces (FWEC) explica su persistencia como herramienta de decisión para controlar el gusano. Las herramientas moleculares deben asumir un uso más extendido a medida que los costos disminuyen y, en última instancia, reemplazarán al cultivo de larvas para ayudar a definir la presencia y los niveles de *H. contortus* en los pastos y en el ganado (Emery et al., 2016).

2.4. Respuesta inmunológica

Los rumiantes, desarrollan una respuesta inmune protectora frente a los nematodos gastrointestinales (GI), debido a la interacción entre mecanismos vinculados a la inmunidad celular y también la humoral. La exposición a nematodos GI genera un incremento en los niveles de inmunoglobulinas, en el abomaso e intestino, y muchos autores las utilizan para evaluar la exposición a estos parásitos (Molina et al., 2009). Se evaluó la expresión

abomasal de IL-2, IL-4, IL-6, IL-10 e IFN γ en corderos infectados experimentalmente con *H. contortus* y su relación con la protección inducida por un concentrado vesicular de larvas de *Taenia hydatigena* (ThLVC). Los corderos que sólo fueron infectados con larvas de *H. contortus* mostraron una carga de gusano mayor que los corderos que recibieron ThLVC antes de la infección. Por otra parte, los corderos que recibieron ThLVC mostraron un mayor número de eosinófilos en sangre que los corderos que no recibieron el ThLVC. En general, los corderos que recibieron ThLVC antes de la infección tenían una mayor cantidad de eosinófilos y mastocitos y una mayor expresión *in situ* de IFN γ , IL-2, IL-4, IL-6 e IL-10 en la pared abomasal que los corderos que estaban infectados con *H. contortus* solamente o que recibieron ThLVC solamente. Se observó una mayor expresión de IL-2 e IFN γ en la submucosa en comparación con la mucosa abomasal y una mayor expresión de IL-4 en la mucosa abomasal comparada con la submucosa. Estos resultados sugieren que existe una respuesta tipo Th1 en la submucosa abomasal y una respuesta tipo Th2 en la mucosa abomasal. La cantidad de eosinófilos y mastocitos y la expresión *in situ* de IFN γ , IL-2, IL-4 e IL-6 en las paredes abomasaes se correlacionaron negativamente con la carga de gusanos. Estos resultados sugieren que el ThLVC es un estimulador inmune no específico para la respuesta inmune abomasal, y es probable que la protección observada sea el resultado de este efecto (Buendía-Jiménez et al., 2015).

2.5. Compuestos bioactivos en plantas.

Los metabolitos secundarios de las plantas (SPME) juegan un papel importante en la supervivencia de las plantas en el medio ambiente y sirven para establecer relaciones ecológicas entre las plantas y otros organismos (Musilova et al., 2016). Las plantas medicinales son de gran importancia con infinitas propiedades terapéuticas útiles para curar diversas enfermedades con una ventaja de ser natural. Por lo tanto, el uso de metabolitos secundarios de origen vegetal podría ser una ventaja y la mejor solución para reducir el uso de productos insalubres. En el pasado, la planta o los extractos microbianos en forma cruda o parcialmente purificada eran las únicas fuentes de medicación disponibles para el tratamiento de enfermedades humanas y animales. Esto dió una idea de que el efecto de un fármaco en el cuerpo humano se debe a una interacción de fármaco con moléculas biológicas, abriendo nuevas puertas en farmacología, como productos químicos puros,

aislados, en lugar de extractos, como patrón para el tratamiento de enfermedades. En la actualidad, hay un número innumerable de tales compuestos bioactivos aislados de extractos crudos y estudiando su estructura química (Bajpai et al., 2016).

2.5.1. Clasificación.

Los compuestos secundarios de plantas de interés comercial, han sido contenidos en tres principales categorías de acuerdo a sus rutas biosintéticas: terpenos, compuestos fenólicos y compuestos nitrogenados. Los terpenos se crean por la polimerización de unidades de isoprenos y esteroides y se fraccionan en seis grupos: monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos, tetraterpenos y esteroides, dentro de los cuales se encuentran carotenos, glicósidos cardiotónicos, taxol, entre otros. Entre los compuestos fenólicos se encierran los ácidos fenólicos, cumarinas, flavonoides y taninos. Los usos farmacéuticos de estos compuestos son inmensos, se refieren sus efectos como analgésicos, antibacterianos, antihepatotóxicos, antioxidantes, antitumorales inmunoestimulantes, antiparasitarios, entre otras. Los compuestos nitrogenados son primariamente los alcaloides y glucósidos cianogénicos. Los alcaloides son un heterogéneo grupo de compuestos por aproximadamente 4, 000 combinaciones conocidas. Estos son fisiológicamente activos en humanos (cocaína, nicotina, morfina). Por otro lado, los glucósidos cianogénicos, se suponen posiblemente, los metabolitos secundarios con mayor inherencia en las funciones de defensa. Un extenso grupo de productos naturales también han sido clasificados según su aplicación. Entre ellos se congregan los productos farmacéuticos que contienen alcaloides (vincristina, vinblastina, ajmalicina, atropina, berberina, codeína, reserpina, nicotina, camptotecina), cardenólidos (digitoxina, digoxina); diterpenos (paclitaxel); saborizantes y flavonoides como el esteviósido, la quinina; productos manejados como pigmentos y en la perfumería como los antocianinos, betalinos, el aceite de rosas y de jazmín y productos manejados con propósitos químicos y agroquímicos como proteasas, vitaminas, lípidos, aceites y látex (Pérez-Alonso y Jiménez, 2011).

2.5.2. Disolventes y extracción.

La extracción de compuestos fenólicos es uno de los ciclos del proceso de preparación de extractos vegetales. Numerosos métodos como microondas, extracciones asistida por ultrasonidos y técnicas basadas en el uso de fluidos comprimidos como la extracción subcrítica de agua (SWE), extracción de fluidos supercríticos (SFE), extracción de fluidos presurizados (PFE) o extracción acelerada de disolventes (ASE) como agentes de extracción, se han desarrollado en los últimos años para la extracción de compuestos fenólicos de materiales vegetales (Wannberg et al., 2006). El efecto de las condiciones de extracción sobre los polifenoles ha sido un tema muy discutido, primordialmente al cotejar diferentes materias primas. Variados factores, como la naturaleza química, la composición del disolvente, el tiempo de extracción, la temperatura de extracción y la relación solvente a sólido, pueden influir significativamente en la eficacia y el rendimiento de la extracción (Paulino et al., 2013). La naturaleza química de los fenoles vegetales varía de simple a altamente; sustancias polimerizadas que incluyen proporciones variables de ácidos fenólicos, fenilpropanoides, antocianinas y taninos, entre otros (Ávalos-García y Pérez-Urria, 2009). Además pueden hallarse como complejos, con carbohidratos, proteínas y otros componentes vegetales; ciertos fenoles de alto peso molecular y sus complejos pueden ser suficientemente insolubles. Por lo tanto, los extractos fenólicos de los materiales vegetales son invariablemente una mezcla de diferentes clases de fenoles que son solubles en el sistema disolvente utilizado (Peña et al., 2013). Pueden ser necesarios pasos adicionales para la eliminación de compuestos fenólicos no deseados y sustancias no fenólicas tales como ceras, grasas, terpenos y clorofilas. Las metodologías de extracción en fase sólida (SPE) y fraccionamiento basado en la acidez son usualmente utilizadas para eliminar compuestos fenólicos no deseados y sustancias no fenólicas (Vinueza et al., 2009). La solubilidad de los compuestos fenólicos se maneja por el tipo de disolvente (polaridad) utilizado. Los tipos de disolvente comúnmente utilizados para la extracción de polifenoles son metanol, etanol, acetona y sus soluciones acuosas. De tal manera que, los disolventes alcohólicos se han utilizado comúnmente para extraer fenólicos de fuentes naturales, porque dan un rendimiento relativamente alto de extracto total, aunque no son altamente selectivos para fenoles, particularmente, las mezclas de alcoholes y agua han revelado ser más eficientes en la extracción de constituyentes fenólicos que los correspondientes sistemas de disolventes monocomponentes (Alvis et al., 2012). El uso del agua como

disolvente no logra una alta eficiencia de extracción debido a que algunas moléculas contienen azúcares en su estructura, que son solubles en agua. Además, la extracción depende de la duración de la influencia del disolvente sobre el sustrato que contiene compuestos fenólicos. Se ha informado, que los períodos de extracción suelen variar de 1 minuto a 24 horas. Los tiempos de extracción más largos aumentan las posibilidades de oxidación de compuestos fenólicos a menos que se añadan agentes reductores al sistema disolvente. La temperatura de extracción es uno de los factores importantes afectando la tasa de extracción de polifenoles; a mayor temperatura, se puede obtener un mayor rendimiento de polifenoles extraídos del vegetal en estudio. Los disolventes a alta temperatura promoverán los polisacáridos en las paredes celulares para distribuirlos al disolvente y para debilitar o socavar la integridad de la pared celular, por lo que se pueden disolver más polifenoles en el disolvente utilizado. Todos estos factores permiten a ambos determinar componentes individuales y obtener los patrones característicos de muestras reales (Zitka et al., 2011; Buelvas et al., 2012).

En estudios con repollo se determinó que posee una rica fuente de compuestos bioactivos tales como flavonoides, glucosinolatos y sus productos de degradación, que pueden tener propiedades antibacterianas, antioxidantes y anticancerosas. Esta investigación se llevó a cabo para estimar el efecto del uso de agua y diferentes disolventes orgánicos como etanol, acetona y metanol a diversas concentraciones sobre los polifenoles totales, la actividad antibacteriana y la capacidad antioxidante de la col de York irlandesa. El agua tiene el mayor rendimiento de extracción del 3.85%, mientras que el 60% del extracto metanólico tiene el mayor contenido de polifenoles totales (33.5 mg de equivalentes de ácido gálico por gramo) y flavonoides (21.9 mg equivalentes de quercetina por gramo [dw] de extracto). Se confirmó una capacidad antioxidante dependiente de la concentración para diferentes especies de oxígeno reactivo, incluyendo peróxido de hidrógeno, capacidad quelante de metales, potencia reductora y peroxidación lipídica. Los extractos brutos mostraron un amplio espectro de actividad antibacteriana para los diferentes disolventes de extracción aplicados; Sin embargo, el 60% de extracto metanólico (1.4%) exhibió mayor actividad antibacteriana contra *Listeria monocytogenes* (Jaiswal et al., 2011).

Los vegetales de Brassica son ricos en polifenoles, flavonoides y glucosinolatos. Se llevó a cabo una investigación para optimizar los mejores solventes entre etanol al 60%, acetona y metanol para la extracción de polifenoles de verduras de Brassica. Los resultados mostraron que un extracto metanólico al 60% mostró el mayor contenido fenólico total, que fue de 23.6, 20.4 y 18.7 mg equivalentes de ácido gálico (GAE) g-1 extracto de brócoli, coles de Bruselas y repollo blanco, respectivamente. Los disolventes afectaron significativamente el contenido polifenólico y sus diferentes propiedades, y el metanol resultó ser el mejor solvente para la extracción de polifenoles de los vegetales de Brassica estudiados (Jaiswal et al., 2012).

Agourram et al. (2013) informaron que el método de extracción por ultrasonidos con mezcla acuosa de acetona fue el más eficaz para los polifenoles de los subproductos de frutas y hortalizas. Estos extractos mostraron el mayor valor de capacidad antioxidante. Se identificaron altos valores de contenido polifenólico y capacidad antioxidante en piel de granada, piel de avellana, semilla de cereza de cornalina, orujo y extractos de cáscara de manzana.

Martins et al. (2014) estudiaron a *Calendula officinalis* L. (*Asteraceae*) que es una especie mediterránea, pero en Europa y América se cultiva con fines ornamentales o medicinales. Esta especie es ampliamente utilizada por presentar actividades, antiinflamatoria antibacteriana y antioxidante. Sin embargo, la acción terapéutica está ligada a la cantidad de activos de la materia prima extraída. El método de extracción de compuestos bioactivos es un paso importante en la fabricación de hierbas medicinales, ya que los metabolitos secundarios con potencial terapéutico se encuentran generalmente en pequeñas cantidades en materiales vegetales. La extracción de rutina se realizó por ultrasonido y agitador y las condiciones optimizadas fueron determinadas por la metodología de superficie de respuesta. En los procesos de extracción existen múltiples variables independientes que interactúan con los factores involucrados. Los estudios de optimización son importantes para la reducción de costos, tiempo de proceso, energía, materias primas y por lo tanto impactos ambientales. El método de extracción es un factor determinante, la extracción ultrasónica es eficiente, sin embargo con períodos prolongados puede degradar la materia prima. Los resultados de la extracción por ultrasonido (UEA) y

la maceración dinámica (MD) mostraron que el rendimiento de la rutina osciló entre 0.218 y 2.28% (proporción entre la materia prima) cuando se extrajo por ultrasonido y 0.1-1.44% por MD. La condición de extracción óptima para rutina (2.48% a UEA o 1.46% a MD) de *C. officinalis* por UEA o MD fue una extracción de 19-22 min, relación etanol: agua de 35-40% y 0.05-0.056 mg / mL a proporción de materia prima: relación disolvente.

Es de gran importancia valorar la temperatura, de manera general, ya que influye de forma positiva en la operación de extracción, facilitando la transferencia de masa, al aumentar la solubilidad del soluto en el disolvente. La disolución de etanol al 60% y la relación soluto-disolvente de 1:35 (masa entre volumen) conforman las mejores condiciones para la extracción de polifenoles por contacto sólido-líquido, utilizando para esta maniobra la menor temperatura estudiada (Valdéz-Hernández et al., 2015).

2.6. Efecto antihelmíntico de los compuestos bioactivos.

Las plantas medicinales se han utilizado desde la antigüedad para tratar las infecciones por parásitos (Hrckova y Velebny, 2013) y las propiedades antiparasitarias de las plantas contra GIN se han relacionado con la presencia de proteinasas (Stepek et al., 2004).

Metabolitos de las plantas, fenoles de plantas, flavonoides y taninos condensados han recibido una atención considerable durante los últimos años (Barrau et al., 2005; Hoste et al., 2006, 2012). Estos compuestos crecen en todas las regiones del mundo. Los Taninos condensados (CT, proantocianidinas) pueden tener efectos directos e indirectos AH así como tener el potencial para mejorar la respuesta inmune innata del huésped (Tibe et al., 2012). Lactonas sesquiterpénicas contenidas en el extracto de ajeno afectaron la motilidad y la viabilidad de nematodos parasitarios debido a la inhibición de la actividad de la enzima acetilcolinesterasa (Valderrábano et al., 2010).

La hipótesis de los efectos directos de los compuestos polifenólicos ha sido corroborada por varios ensayos *in vitro* contra diferentes etapas del ciclo de vida del parásito (Bahuaud et al., 2006; Novobilský et al., 2011). En ensayos con *Citrus aurantifolia*, las pruebas fitoquímicas revelaron la presencia de alcaloides, glucósidos,

taninos y flavonoides en sus extractos. Los taninos son compuestos polifenólicos y tienen propiedades químicas similares con algunos antihelmínticos fenólicos sintéticos como la niclosamida, el oxiclosanuro y el bitionol, que se ha demostrado que interfieren con la generación de energía en helmintos desacoplando la fosforilación oxidativa. Es posible que los taninos contenidos en los extractos de esta planta produjeran resultados similares. Otro posible efecto antihelmíntico de los taninos es que pueden unirse a proteínas libres en el tracto gastrointestinal del animal huésped o glicoproteína en la cutícula del parásito y causar su muerte (Sunday et al., 2015).

Se ha demostrado que los taninos deforman las superficies de los nematodos. Curiosamente, la exposición a extractos de plantas que contienen taninos (que también contenían flavonoides) provocó la degeneración de las células musculares y una marcada desorganización intracelular. Estos autores especularon si las lesiones observadas en la cutícula de las larvas desenvainadas de L₃ podrían haberse debido a la acumulación de productos metabólicos, lo que a su vez podría haber producido toxicidad celular bloqueando el intercambio metabólico con el medio ambiente. . La quercetina es bien conocida como un inhibidor de las glicoproteínas P (P-gp), que juega un papel importante en el transporte de xenobióticos. Se desconoce si esta actividad también contribuye a mejorar los efectos antihelmínticos de los taninos. Este estudio proporcionó la primera evidencia de efectos sinérgicos entre taninos condensados y dos flavonoides comunes, quercetina y luteolina, en términos de inhibición de desenvainamiento de larvas L₃ de *H. contortus*, *in vitro* (Klongsiriwet et al., 2015).

Compuestos bioactivos como el carvacrol pueden penetrar en las tres capas básicas (vitelina externa, quitina intermedia y capa interna de lípidos) que forman la cáscara de *H. contortus*. La capa intermedia de quitina es una asociación de fibrillas quitinosas rodeadas por una capa proteica que puede proporcionar la cáscara del huevo. Esta capa intermedia puede ser una barrera a la penetración de los compuestos acetilados, ya que la mayor liposolubilidad conferida por el radical acetilo sólo permite una mayor penetración en las membranas lipídicas, la capa interna. El efecto ovicida de Carvacrol (EC₅₀ = 0.1 mg / ml) fue superior a otros compuestos aislados de aceites esenciales que exhiben efecto

antihelmíntico, tales como timol ($EC_{50} = 0.5 \text{ mg / ml}$), anetol ($EC_{50} = 0.6 \text{ mg / ml}$), alcanfor ($EC_{50} = 1.8 \text{ mg / ml}$) y borneol ($EC_{50} = 1.5 \text{ mg / ml}$) (Andre et al., 2016).

Las acciones terapéuticas de las especies de *Rubus* se asignan a componentes activos de polifenoles, como flavonoides y las fracciones de taninos; de hecho, los flavonoides y los taninos condensados se han considerado como los principales componentes químicos responsables de la acción antioxidante y actividad antihelmíntica (Akkari et al., 2016). El consumo de plantas de la Selva Baja Caducifolia de Yucatán puede aportar compuestos secundarios con efecto antiparasitario (Torres-Acosta et al., 2016).

2.7. Criterios para seleccionar plantas con propósitos antiparasitarios.

Los criterios para seleccionar especies del reino vegetal que se evalúan para desarrollar experimentos de tipo bioensayo, pueden ser variados, los límites entre estos no siempre se mantienen y la combinación entre algunos es factible. Prevalecen el punto de vista de colecta al azar y el fundamentado en el conocimiento de la medicina tradicional o etnomédico. En ello incide primordialmente la discrepancia de posibilidades y recursos económicos; así como de beneficios entre las instituciones comerciales y académicas y entre países con diferente desarrollo. Entre los criterios para la selección de plantas a ser utilizadas en bioensayos se pueden mencionar:

1. Elegir al azar y montar un tamizaje químico o biológico, o ambos.
2. Búsqueda de usos etnomédicos de plantas (medicina tradicional herbolaria).
3. Respaldados en la quimiotaxonomía.
4. Fundamentados en la ecología.
5. Genómica y metabolómica.
6. Investigaciones epidemiológicas.
7. Clasificación de la biodiversidad apoyada en la taxonomía botánica (Abreu y Cuellar, 2008).

En el criterio etnomédico se tiene como principio, investigar las especies vegetales con crédito de uso tradicional por parte de diferentes poblaciones. Se incluyen las plantas que integran parte de sistemas médicos tradicionales, los cuales han desarrollado por decenas de siglos como: la Medicina Tradicional China, la Medicina Ayurveda, Siddha, Unani (de raíz Greco-Árabe) de la India o la Kampo del Japón. Se discute también la medicina herbolaria occidental (Herbalismo) ejercida principalmente en Europa y Norteamérica con los patrimonios florísticos de estas zonas y que tiene un cierto apogeo en la actualidad. En gran proporción es aceptado el folklore y chamanismo ejercido en África y Suramérica, cuyo pilar teórico se difunde de generación en generación por parte del chaman, curandero o practicante tradicional; en los que en muchos casos el trabajo terapéutico se conjuga con temas espirituales y mágico-religiosas. Adherirse a esta información y documentarla de la manera más amplia y veraz es la función de la etnobotánica de plantas medicinales, que se pudiera ahondar en otro trabajo. La utilización de bases de datos radica en una herramienta importante afín con este criterio. Se pueden mencionar algunas como: NAPRALERT (acrónimo de Natural Products Alert) (Universidad de Illinois, Chicago, N.R. Farnsworth Ed.), Medicinal and Aromatic Plants Abstract (Council for Cientific and Industrial Research, CSIR, India), Native American Ethnobotany Database. (Universidad de Michigan, D. Moerman Ed.) y la Phytochemical and Ethnobotanical Database (ARS, USDA, J. Duke Ed.) (Fabricant y Farnsworth, 2001).

Amparados con la quimiotaxonomía, la presencia de diferentes compuestos como marcadores biosintéticos es utilizada por los botánicos en sus investigaciones de taxonomía; pero también se usa como herramienta en la elección de familias, subfamilias y géneros para ser indagados en función de los metabolitos que se prevé producen (Basso et al., 2005). Por tal razón, se pueden seleccionar especies bien relacionadas filogenéticamente de plantas con actividad conocida o plantas que contienen el mismo tipo de entidad química conocidas por su actividad, de acuerdo a Vuorela et al. (2004). Kaplan y Gotlieb (1990) preservan este criterio y plantean que la búsqueda racional de principios activos no puede ser solamente a partir de plantas conocidas como medicinales, y que tampoco a partir de una base aleatoria. Por lo que señalan que el número de especies reportadas como medicinales es ínfimo respecto al total de las existentes.

En el tema de ecología, se puede mencionar que luego de análisis de interacciones entre gremios en su nicho ecológico se promueven posibles actividades biológicas (antifúngicas, antibacterianas plaguicidas, tóxicas). Además se formula un cambio que resulta muy sugerente, lo cual se ha nombrado zoofarmacognosia, y se asienta en el estudio de plantas utilizadas por animales cuando se sienten enfermos, usualmente primates. Varios estudios de actividad biológica y fitoquímicos han demostrado efectos antibacterianos y antiparasitarios de plantas que primates suelen consumir tomando solo la savia de las hojas y ramas o tragando las hojas enteras, de acuerdo a Krief et al. (2006).

Para la elaboración de compuestos activos pensando que las plantas fuesen fábricas, se debe conocer con profundidad los mecanismos moleculares que gobiernan todas las rutas y las enzimas específicas que tiene la facultad de producir los metabolitos secundarios, Boonstra y Rathbone (2001). Para estudios epidemiológicos, este criterio recomendado por Vuorela et al. (2004) se sustenta en comprobar inferencias epidemiológicas. Por ejemplo, la relación entre la ingesta de algunos alimentos altos en flavonoides con la reducción de patologías cardiovasculares u oncológicas.

III. ARTÍCULO 1

ACTIVIDAD OVICIDA Y LARVICIDA DE EXTRACTOS ACUOSOS DE *Pluchea sericea* Y *Artemisia tridentata* EN *Haemonchus contortus*

Ramón Luck Montero ⁽¹⁾, Leonel Avendaño Reyes ⁽¹⁾, Carlos Enrique Ail Catzim ^(1,*), Jorge Alfredo Cuellar Ordáz ⁽²⁾, Fernando Alberto Muñoz Tenería ⁽³⁾ y Ulises Macías Cruz ⁽¹⁾

⁽¹⁾Instituto de Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma de Baja California. Ejido Nuevo León, Carretera a Delta, S/N, C.P. 21705, Mexicali, Baja California, México.
carlos.ail@uabc.edu.mx, ramonluckmedioambiente@yahoo.com.mx, lar62@uabc.edu.mx,

umacias@uabc.edu.mx. ⁽²⁾Facultad de Estudios Superiores, Universidad Nacional Autónoma de México. Av. 1o de Mayo S/N, Santa María las Torres, Campo Uno, 54740 Cuautitlán Izcalli, Estado de México, México. jcuellar@unam.mx. ⁽³⁾Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Km. 14.5 Carretera San Luis Potosí-Matehuala, Ejido Palma de la Cruz, Soledad de Graciano Sánchez, San Luis Potosí, San Luis Potosí, México. Apdo. Postal 32, CP. 78321. fernando.munoz@uaslp.mx. *Autor para correspondencia: carlos.ail@uabc.edu.mx,

3.1. Resumen

En esta investigación se evaluó la actividad ovicida y larvicida de extractos acuosos de *Pluchea sericea* y *Artemisia tridentata* sobre *Haemonchus contortus*. Se expusieron huevos y larvas a 100, 75, 50, 25 y 12,5 mg mL⁻¹ de cada extracto, más un testigo absoluto y uno comercial (Albendazol). Se realizó un análisis de varianza y se estimaron los valores de CL₅₀ para los extractos sobre huevos y larvas de *H. contortus*. Los tratamientos a base de *P. sericea* y *A. tridentata* fueron estadísticamente diferentes al testigo ($P=0,0001$), indicando que estas plantas tienen efecto ovicida y larvicida sobre el parásito. Se obtuvieron 100 y 96,30 % de inhibición de eclosión con 100 mg mL⁻¹ de extracto de *P. sericea* y *A. tridentata* respectivamente, además se observó 92,67 y 89,33 % de mortalidad para larvas L₃. Se obtuvieron valores de CL₅₀ de 23,21 y 23,26 mg mL⁻¹ de extracto de *P. sericea* y *A. tridentata* respectivamente para la inhibición de eclosión de *H. contortus*. Para la mortalidad de larvas L₃ se obtuvieron valores CL₅₀ de 20,36 y 27,18 mg mL⁻¹ de extracto de *P. sericea* y *A. tridentata* respectivamente. Estos resultados confirman el potencial antihelmíntico de extractos acuosos de *P. sericea* y *A. tridentata*.

Palabras claves: antihelmíntico, nematodo gastrointestinal, fitoquímico.

Ovicidal and larvicidal activity of aqueous extracts of *Pluchea sericea* and *Artemisia tridentata* in *Haemonchus contortus*

3.2. Abstract

In this research the ovicidal and larvicidal activity of aqueous extracts of *Pluchea sericea* and *Artemisia tridentata* on *Haemonchus contortus* was evaluated eggs and larvae were exposed to 100, 75, 50, 25 and 12.5 mg mL⁻¹ extracts of both plants, more than a absolute control and a commercial one (Albendazole). An analysis of variance was performed and the LC₅₀ values for extracts on eggs and larvae of *H. contortus* were estimated. The treatments based on *P. sericea* and *A. tridentata* were statistically different from the control, indicating that these plants have ovicidal and larvicidal effects on the parasite. 100 and 96,30 % inhibition of hatching were obtained with 100 mg mL⁻¹ extracts of *P. sericea* and *A. tridentata* respectively, in addition, it was observed 92.67 and 89.33 % of mortality to larvae L₃. Values of LC₅₀ of 23.21 and 23.26 mg mL⁻¹ were obtained for extracts of *P. sericea* and *A. tridentata* respectively on inhibition of hatching of *H. contortus*. For the mortality of larvae (L₃) were obtained LC₅₀ values of 20.36 and 27.18 mg mL⁻¹ extracts of *P. sericea* and *A. tridentata* respectively. These results confirm the anthelmintic potential of aqueous extracts of *P. sericea* and *A. tridentata*.

Index Terms: anthelmintic, gastrointestinal nematode, phytochemical.

3.3. Introducción

El nematodo *Haemonchus contortus* es un parásito causante de la principal afectación en la productividad de ovinos en diferentes regiones del mundo debido a su actividad hematófaga, provoca reducción en las tasas de crecimiento y fecundidad, así como un incremento en la mortalidad de estos animales (Moreno et al.,2010). Su tratamiento y control se ha basado exclusivamente con moléculas de químicos inorgánicos, lo que ha provocado que haya adquirido resistencia a este tipo de productos (Van Wyk., 2001). Esta problemática ha motivado a numerosos investigadores a buscar alternativas amigables con el ambiente, para el manejo de este parásito y una de éstas es el uso de plantas con

propiedades antihelmínticas (Zapata et al., 2013; Irum et al., 2015). La exploración de plantas para el control de nematodos gastroentéricos de ovejas y cabras ha sido extensa en los últimos diez años, y muchos extractos crudos o soluciones antiparasitarias se han desarrollado. Entre las plantas investigadas en diferentes regiones del mundo con efecto ovicida y larvicida contra *H. contortus*, se reportan a *Gliciridia sepium* (Pérez-Pérez et al., 2014); *Theobroma cacao* (Vargas-Magaña et al., 2014); *Citrus sinensis* (Islam et al., 2015); *Artemisia vestita*, *Artemisia marítima* (Irum et al., 2015) y *Rhizophora mangle* (Alemán et al., 2015). A pesar de que existen numerosas plantas con propiedades antihelmínticas, es importante seguir investigado otras especies de plantas que pudieran presentar potencial antihelmíntico contra *H. contortus*.

La planta *Pluchea sericea* comúnmente conocida como “Cachanilla” es un arbusto silvestre de hoja perenne, crece en suelos arenosos o salinos en los desiertos de Baja California, Sonora y Chihuahua en México (Villaseñor y Villareal, 2006). Existe evidencia reciente de su potencial en el control de plagas de los cultivos. Ail-Catzim et al. (2015) reportan efecto insecticida y repelente de extractos acuosos, acetónicos y etanólicos de hoja y tallo de *P. sericea* sobre *Bemisia tabaci*. La planta *Artemisia tridentata* es un arbusto importante del oeste de Norte América, se distribuye desde Columbia Británica hasta México (Jassbi et al., 2010). Los usos de esta especie por pueblos nativos americanos incluyen analgésicos, antiinflamatorios, antisépticos, actividad de inmunoestimulación, así como el tratamiento de aflicciones de origen espiritual (Turi et al., 2014).

En México no existen estudios que confirmen el potencial antihelmíntico de *P. sericea* y *A. tridentata* sobre *H. contortus*; por lo tanto, es importante estudiar que los extractos de estas plantas, pueden ser una herramienta útil para el manejo de *H. contortus* en sistemas de producción de ovinos. Debido a lo expuesto anteriormente, el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto ovicida y larvicida de extractos acuosos de hojas de *P. sericea* y *A. tridentata* en huevos y larvas L₃ de *H. contortus*.

3.4. Materiales y Métodos

Los experimentos se realizaron en el Laboratorio de Parasitología del Instituto de Ciencias Agrícolas de la Universidad de Baja California, localizada en Ejido Nuevo León, Mexicali, Baja California, México, situado a 32° 24' 34'' N y 115° 11' 31'' O.

Se recolectaron partes aéreas de *P. sericea* en el Valle de Mexicali (32° 24' 34'' N y 115° 11' 31'' O) en el municipio de Mexicali y *A. tridentata* en el Valle de la Trinidad (31° 24' 15'' N y 115° 43' 55'' O) en el municipio de Ensenada. La identificación de cada especie de planta fue confirmada por el Dr. José Delgadillo Rodríguez, Profesor-Investigador en el área de botánica de la Facultad de Ciencias de Universidad Autónoma Baja California. Las muestras de hojas se secaron en el laboratorio de Parasitología a temperatura ambiente bajo sombra, posteriormente fueron trituradas en un molino (0.5 HP, 112 V, Willey) para obtener partículas de 2 mm de diámetro.

Los extractos de *P. sericea* y *A. tridentata* se prepararon con 200 g de muestra de hojas trituradas de cada planta en 2 L de agua destilada a 100 °C, se dejó reposar por tres horas. Posteriormente se filtró con gasa y algodón para separar los residuos sólidos, el filtrado de cada muestra se rotovaporó a 40°C y 0.2 bar de presión con un equipo Heidolph L3. El extracto concentrado se congeló a -50 °C para su liofilización en un equipo Lacomco.

Para la obtención de huevos y larvas de *H. contortus*, se suministró oralmente 4000 larvas de tercer estadio (L₃) del parásito a dos ovinos machos no castrados de 4 meses de edad, con peso de 25 kg cada uno, lo cual garantizó un conteo fecal de huevos de 2000 huevos por gramo de heces. Estos animales recibieron una dieta de mantenimiento recomendada por la National Research Council (NRC., 2007). Permanecieron en estabulación total en corrales elevados y con disponibilidad de agua ad libitum, de acuerdo a las normas de Bienestar Animal (OIE., 2015). A partir del día 21 post-infestación, se extrajeron heces de los donadores directamente del recto, las muestras se trasladaron al laboratorio para la recuperación de los huevos del parásito. Las muestras de heces frescas fueron maceradas y homogenizadas en un mortero, se saturaron con agua destilada, luego se filtraron a través de tamices de 180, 106, 75 y 25 µm, para eliminar la materia orgánica, los huevos fueron retenidos en el último tamiz (Bizimenyera et al., 2006). Se recogieron los huevos con una micropipeta Pasteur y se resuspendieron con solución salina saturada, se centrifugó a 2000 rpm durante 5 min. Se extrajo el sobrenadante, se lavó con agua destilada en el tamiz de 25

µm para eliminar la solución salina. Para el caso de larvas L₃, se utilizó la técnica de Corticelli y Lai (1963), que consistió en colocar materia fecal húmeda dentro de una caja de Petri 9 cm de diámetro, posteriormente se colocó dentro de otra caja de Petri de 15 cm de diámetro, se añadió agua destilada entre ambas cajas y por último se tapó la caja de Petri de 15 cm. Se mantuvieron durante 15 días bajo condiciones controladas, temperatura de 26 °C y Humedad relativa de 85 %, después de este periodo se detectó la presencia de larvas L₃.

Los experimentos de inhibición de huevos se realizaron depositando en cada pozo de una microplaca (96 pozos) 100 huevos contenidos en 50 µL de agua destilada y se le agregó 50 µL de cada una las concentraciones de 100, 75, 50, 25 y 12,5 mg mL⁻¹ de los extractos de *P. sericea* o *A. tridentata*, además se incluyeron un testigo absoluto (agua destilada) y testigo comercial (Albendazol 1,0 mg mL⁻¹). Se incluyeron 10 repeticiones para cada concentración y testigos. Las microplacas se sellaron y se mantuvieron por 24 h en incubadora a 27 °C y humedad de 85 %. Transcurrido este tiempo se detuvo la eclosión, con la adición de 10 µL de solución de lugol al 3 % (Assis et al., 2003). La evaluación de la inhibición de huevos se realizó colocando 10 alícuotas de 10 µL de cada tratamiento en un portaobjeto para cuantificar los huevos no eclosionados, mediante un microscopio compuesto (Fisher Scientific Micromaster) con aumento de 10X. El porcentaje de inhibición de eclosión de huevos se calculó mediante la fórmula:

$$\% \text{ Inhibición de eclosión de huevos (\%)} = \frac{\# \text{ de huevos no eclosionados}}{\# \text{ de huevos total en cada pozo}} \times 100$$

Los experimentos de mortalidad larval se realizaron depositando en cada pozo de una microplaca (96 pozos) 30 larvas L₃ contenidos en 30 µL en una solución tampón de fosfato y se le agregó 30 µL de cada una las concentraciones de 100, 75, 50, 25 y 12,5 mg mL⁻¹ de los extractos de *P. sericea* o *A. tridentata*, además se incluyeron un testigo absoluto (tampón de fosfato) y testigo comercial (Albendazol 1 mg mL⁻¹). Se incluyeron 5 repeticiones para cada concentración y testigos. Las microplacas se sellaron y se mantuvieron por 24 h en incubadora a 27 °C y humedad de 85 %. La evaluación de la mortalidad se realizó colocando 6 alícuotas de 10 µL de cada tratamiento en un portaobjeto para cuantificar las larvas muertas mediante un microscopio compuesto (Fisher Scientific

Micromaster) con aumento de 10X, se consideró como larvas muertas, aquellas que presentaran enroscamiento del cuerpo y falta de motilidad. El porcentaje de mortalidad se calculó mediante la fórmula de:

$$\% \text{ Mortalidad larval} = \frac{\# \text{ de larvas } L_3 \text{ muertas}}{\# \text{ total de larvas en cada pozo}} \times 100$$

Los resultados de los experimentos se analizaron mediante un análisis de varianza con un diseño completamente al azar con el PROC GLM de SAS[®] versión 9,0 y las medias del porcentaje de inhibición y mortalidad larval para cada extracto se compararon con la prueba de Tukey con $\alpha=0,05$. Se estimó el valor de la concentración letal media (CL_{50}) y sus límites fiduciales al 95 % para cada extracto y cada estadio del parásito mediante el procedimiento PROC PROBIT de SAS versión 9,0, se consideró que dos valores de CL_{50} son estadísticamente iguales si existe traslape entre sus límites fiduciales a 95 % (Robertson et al., 2007).

3.5. Resultados y Discusión

En la figura 1, se observa que a medida que se incrementa la concentración de los extractos de *P. sericea* y *A. tridentata* el porcentaje de inhibición de eclosión de huevos de *H. contortus* fue mayor. El análisis de varianza indicó diferencias significativas entre los tratamientos ($F=153,44$; $gl=6, 63$; $P=0,0001$). Todos los tratamientos a base de *P. sericea* fueron estadísticamente diferentes al testigo (Tukey, $\alpha=0,05$), resultados similares se presentaron con los extractos de *A. tridentata*, indicando que estas plantas tiene efecto ovicida sobre *H. contortus*. El tratamiento de 100 mg mL⁻¹ de *P. sericea* y *A. tridentata* resultaron estadísticamente igual a albendazol a concentración de 1 mg mL⁻¹ (Tukey, $\alpha=0,05$), los demás tratamiento presentaron menor porcentaje de inhibición de eclosión en comparación con estos dos tratamientos (Figura 1).

Existe evidencia de diferentes plantas que han mostrado actividad ovicida sobre este parásito (Zhu et al., 2013; Akkari et al., 2014). En este estudio con 100 mg mL⁻¹ de extractos de *P. sericea* y *A. tridentata* se obtuvieron 100 y 96,30 % de inhibición de eclosión de huevos respectivamente (Figura 1), resultados que coinciden con Mini et al.

(2013) quienes obtuvieron 90 % de inhibición de eclosión de huevos con 100 mg mL⁻¹ de extracto acuoso de *Aristolochia indica* sobre *H. contortus*.

Los extractos de *P. sericea* y *A. tridentata* en 100 mg mL⁻¹ presentaron mayor eficacia comparado con el extracto acuoso de semillas de *Azadirachta indica*, que requirió 500 mg mL⁻¹ para obtener 99,1 % de inhibición de eclosión de huevos de *H. contortus* (Barrabí-Puerta y Arece-García, 2013). En contraste los extractos de *P. sericea* y *A. tridentata* fueron menos eficaces en comparación con el extracto acuoso de *Artemisia campestri*, ya que con 2 mg mL⁻¹ se obtuvo 100 % de inhibición de eclosión de huevos de *H. contortus* (Akkari et al., 2014), lo que indica que los extractos evaluados en este estudio fueron 50 veces menos eficaces en comparación con este estudio.

En el cuadro 1 se presentan los valores de CL₅₀ para las dos especies de plantas estudiadas para la inhibición de huevos, se observa que no existen diferencias significativas entre estos dos valores, porque existe traslape entre los límites fiduciales (Robertson et al., 2007), lo que nos confirma que ambos extractos tuvieron efecto ovicida igual en *H. contortus*.

Los valores de CL₅₀ obtenidos en este estudio son superiores a los de Akkari et al. (2014) quienes obtuvieron CL₅₀ de 1,0 mg mL⁻¹ de extracto de *A. campestri* sobre huevos de *H. contortus*, mientras que los extractos acuosos de *A. tridentata* y *P. sericea* registraron CL₅₀ de 23,26 y 23,21 mg mL⁻¹ respectivamente. Kamaraj y Rahuman (2011) reportan también valores de CL₅₀ inferiores a los obtenidos en esta investigación para extractos metanólicos de *Annona squamosa* y *Eclipta prostrata*, extractos de etil acetato de *Solanum torvum* y *Catharanthus roseus*, y extractos acetónicos de *Terminalia chebula*.

En la Figura 2, se observa que al incrementar la concentración de los extractos de *P. sericea* y *A. tridentata* el porcentaje de mortalidad de larvas L₃ fue mayor, resultados similares a los obtenidos en el experimento con huevos de *H. contortus*; lo que nos sugiere que la eficacia de los extractos sobre larvas y huevos del parásito es dependiente de la concentración del extracto. El análisis de varianza registró diferencias significativas entre los diferentes tratamientos ($F=13,30$; $gl=6, 28$; $P=0,0001$) para larvas L₃ de *H. contortus*. Todas las concentraciones de los extractos de *P. sericea* y *A. tridentata* fueron más eficaces en comparación con el testigo absoluto (Tukey, $\alpha=0,05$), demostrando que estas dos plantas tienen efecto larvicida en *H. contortus*. El tratamiento de 100 mg mL⁻¹ de extractos de *P.*

sericea y *A. tridentata* resultaron estadísticamente igual al albendazol a concentración de $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$ (Tukey, $\alpha=0,05$). Estos resultados son similares con los reportados por Irum et al. (2015) quienes con 100 mg mL^{-1} de extracto de *A. marítima* y *A. vestita* obtuvieron 100 y 85 % de mortalidad larval respectivamente. Pero los extractos de *P. sericea* y *A. tridentata* tuvieron menor eficacia en comparación con el extracto acuoso de *Saba senegalensis*, quien exhibió 97,77 % de mortalidad en L_3 con una concentración de 15 mg mL^{-1} (Belemlilga et al., 2016) en contraste, en este estudio se obtuvieron 92,67 y 89,33 % de mortalidad larval con 100 mg mL^{-1} de extracto de *P. sericea* y *A. tridentata* respectivamente (Figura 3). Morais-Costa et al. (2016) reportan mayor eficacia para extracto acuoso de *Piptadenia viridiflora* en comparación con los extractos de este estudio, con $19,31 \text{ mg mL}^{-1}$ registraron 93,13 % de mortalidad sobre L_3 .

En el cuadro 2 se muestran los valores de CL_{50} para mortalidad larval de las dos especies de plantas estudiadas, se observa que no existen diferencias significativas entre estos dos valores, ya que existe traslape entre sus límites fiduciales (Robertson et al., 2007), confirmando que ambas plantas tienen efecto larvicida igual sobre este parásito. Los valores de CL_{50} obtenidos en esta investigación son similares al valor de CL_{50} de $12,2 \text{ mg mL}^{-1}$ de extracto de *A. marítima* (Irum et al., 2015). En general los valores CL_{50} de los extractos de *P. sericea* ($20,36 \text{ mg mL}^{-1}$) y *A. tridentata* ($27,18 \text{ mg mL}^{-1}$) fueron mayores en comparación con otros estudios donde se evalúan la actividad larvicida de extractos de plantas en *H. contortus* (Acharya et al., 2014; Akkari et al., 2014; Zhu et al., 2013), demostrando menor eficacia de los extractos estudiados.

La diferencia en eficacia que exhibieron los extractos de *P. sericea* y *A. tridentata* en comparación con otros estudios realizados en diferentes partes del mundo para evaluar la actividad ovicida y larvicida sobre *H. Contortus* pudiera estar relacionada con la concentración de los compuestos bioactivos que contiene cada una de las especies evaluadas y también al disolvente utilizado en la preparación de los extractos. Cuando se utiliza disolventes orgánicos se extraen más compuestos bioactivos de las plantas en comparación con extractos acuosos (Alawa et al., 2003), lo cual pudiera explicar las diferencias en la efectividad de los extractos acuosos de las plantas estudiadas en esta investigación. Además en muchas investigaciones es recomendado el uso del dimetil

sulfóxido, cual podrían influir en la eficiencia de los extractos vegetales, se conoce que dimetil sulfóxido tiene capacidad emulsionante y solubiliza compuestos altamente polares o no polares, lo que facilita el paso de los compuestos a través del corión del huevo, afectando su eclosión y el desarrollo larval en mayor grado (Acharya et al., 2014), en esta investigación no se empleó este producto.

Existen reportes de varias especies del género *Artemisia* con potencial antihelmíntico sobre *H. contortus*, tal como *A. vestita*, *A. maritima*, *A. campestri*, *A. lancea*, *A. afra*, *A. annua*, *A. absinthium* y *A. brevifolia* (Irum et al., 2015; Akkari et al., 2014; Zhu et al., 2013; Molefe et al., 2012; Squires et al., 2011). Pero no existen reportes del potencial antihelmíntico de *A. tridentata*, por tanto los resultados de esta investigación representan el primer reporte de la actividad ovicida y larvicida de esta especie sobre *H. contortus*. En relación a *P. sericea*, existen estudios que avalan su actividad insecticida (Ail-Catzim et al., 2015) y su potencial para la síntesis de nanopartículas de plata con efecto bactericida (Abdelmoteleb et al., 2016), sin embargo no existen ningún estudio que evalué su potencial como alternativa para el control de *H. contortus*, por lo que los resultados de esta investigación representan también la primera evidencia del potencial antihelmíntico de esta especie de planta.

3.6. Conclusiones

1. Se concluye que los extractos acuosos de hojas de *P. sericea* y *A. tridentata* mostraron actividad ovicida y larvicida dependiente de la concentración de los extractos. Con lo cual pudiera considerarse el uso de estos extractos para el control de nematodos gastrointestinales en pequeños rumiantes.
2. Se recomienda realizar trabajos de investigación *in vivo*, para obtener la concentración óptima antihelmíntica de los extractos vegetales en pequeños rumiantes. Con el fin confirmar el potencial antihelmíntico *in vitro* de los extractos de *P. sericea* y *A. tridentata*.
3. Se recomienda realizar un análisis fitoquímico de ambas plantas que permitirá identificar los compuestos bioactivos responsables de la actividad ovicida y larvicida de los extractos.

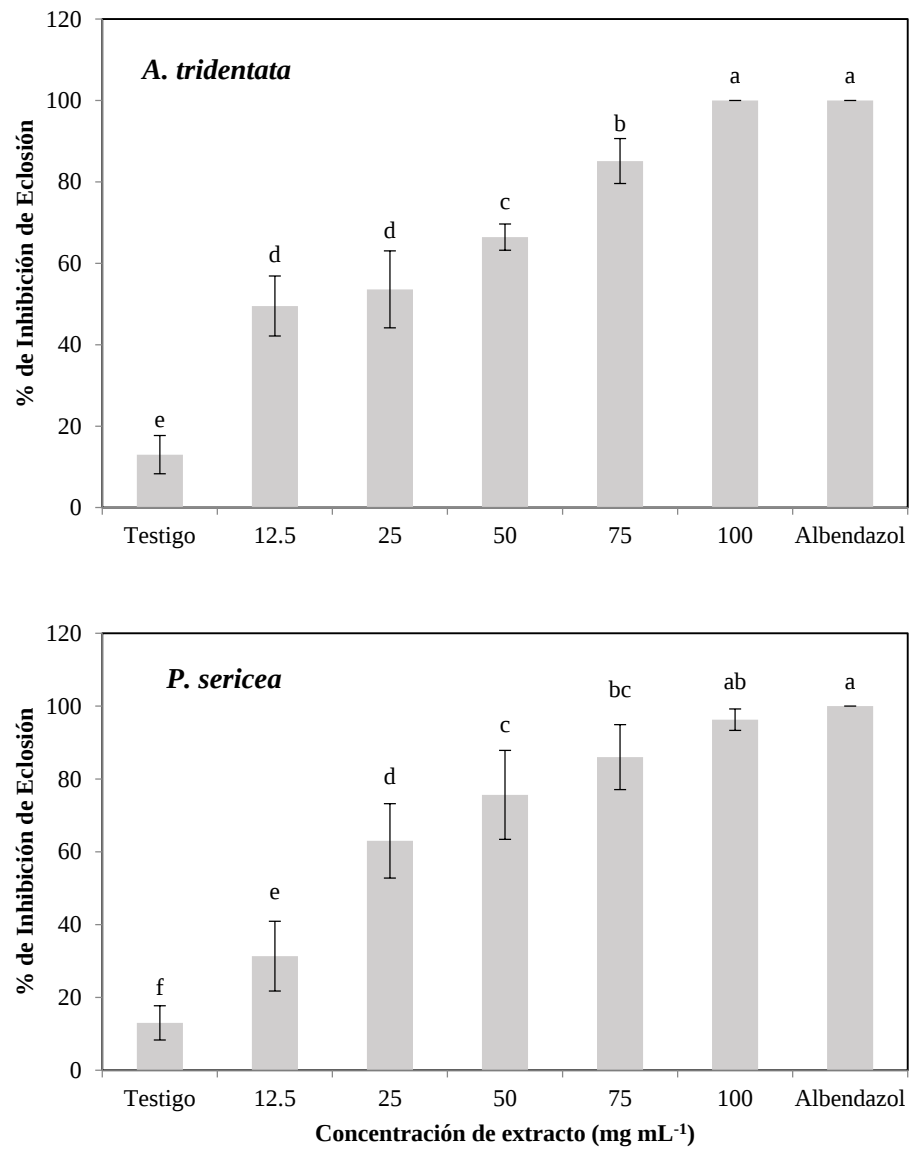


Figura 1. Porcentaje de inhibición de eclosión de huevos de *H. contortus* expuestos a cinco concentraciones de extractos acuosos de *P. sericea* y *A. tridentata*.

Cuadro 1. Concentración Letal media (CL₅₀) para la inhibición de eclosión de huevos *H. contortus* expuestos a extractos acuosos de *P. sericea* y *A. tridentata*.

Extracto	CL ₅₀ ⁽¹⁾ (mg mL ⁻¹)	Límites fiduciales 95 % (mg mL ⁻¹)	
		Inferior	Superior
<i>P. sericea</i>	23.21a	24.54	28.29
<i>A. tridentata</i>	23.26a	20.78	25.66

⁽¹⁾ Valores de CL₅₀ seguidos de letras iguales en la columna no son diferentes estadísticamente según Robertson et al., (2007).

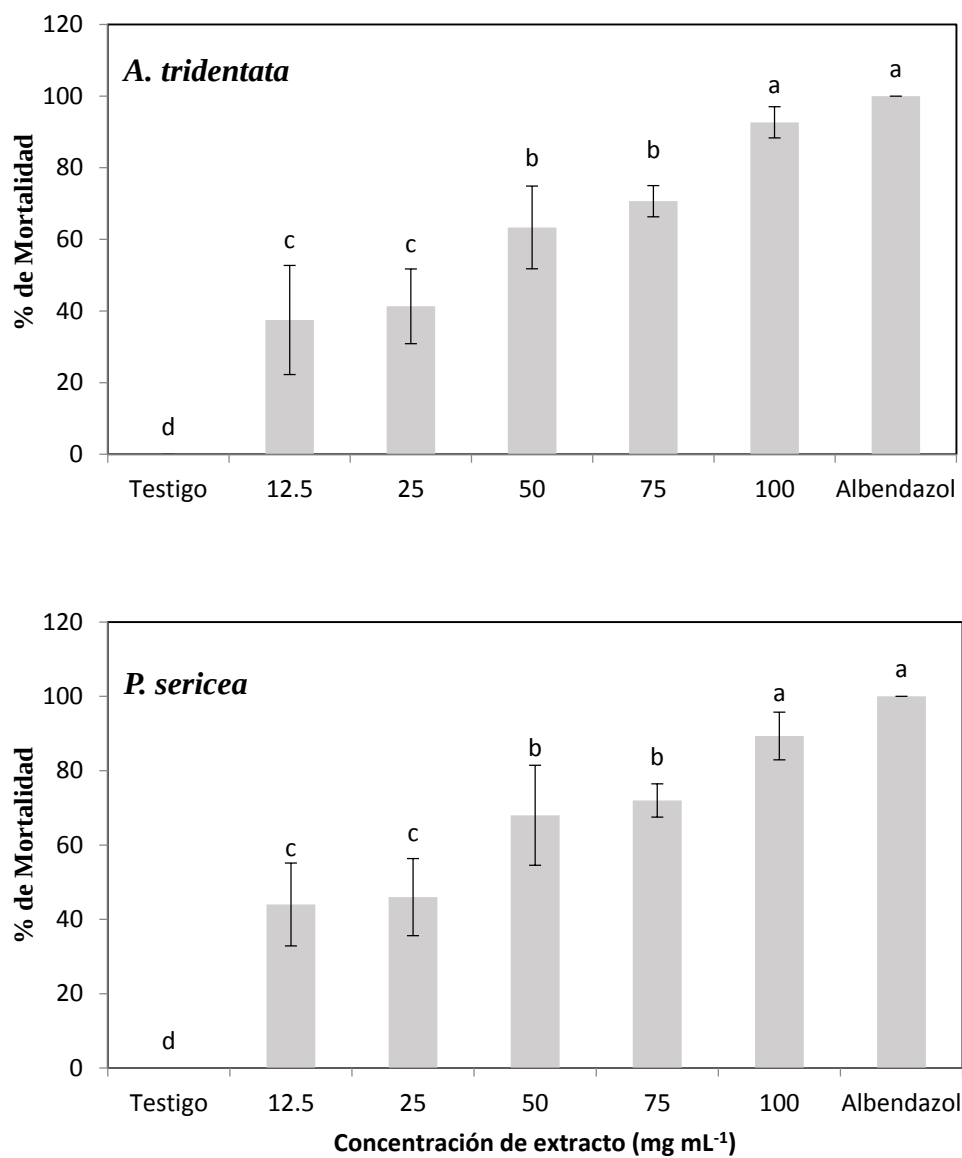


Figura 2. Porcentaje de mortalidad de larvas (L₃) de *H. contortus* expuestas a cinco concentraciones de extractos acuosos de *P. sericea* y *A. tridentata*.

Cuadro 2. Concentración Letal media (CL₅₀) para mortalidad de larvas L3 expuestas a diferentes concentraciones de extractos acuosos de *P. sericea* y *A. tridentata*.

Extracto	CL ₅₀ ⁽¹⁾ (mg mL ⁻¹)	Límites fiduciales 95% (mg mL ⁻¹)	
		Inferior	Superior
<i>P. sericea</i>	20.36a	11.61	29.73
<i>A. tridentata</i>	27.18a	19.09	35.20

⁽¹⁾ Valores de CL₅₀ seguidos de letras iguales en la columna no son diferentes estadísticamente según Robertson et al., (2007).

IV. ARTÍCULO 2

***Haemonchus contortus* en ovinos: patogenicidad, resistencia y efecto antihelmíntico de compuestos bioactivos en plantas**

Ramón Luck Montero ⁽¹⁾, Leonel Avendaño Reyes ^(1*), Ulises Macías Cruz ⁽¹⁾, Carlos Ail Catzin ⁽¹⁾, Iván Córdova Guerrero ⁽²⁾

⁽¹⁾ Instituto de Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma de Baja California. Ejido Nuevo León, Carretera a Delta, S/N, C.P. 21705, Mexicali, Baja California, México.

⁽²⁾ Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Baja California, Calzada Universidad, 14418, Parque Industrial Internacional, Tijuana, B. C., México.

* Autor para correspondencia: Leonel Avendaño Reyes, ICA-UABC; e-mail: lar62@hotmail.com, lar62@uabc.edu.mx.

4.1. Resumen

El nematodo gastrointestinal (NGI) *Haemonchus contortus* es causa de fuertes pérdidas económicas en explotaciones ovinas de México y otros países del mundo. Además de los daños que causa en la salud y productividad de los corderos, éstos han demostrado resistencia contra los productos antiparasitarios basados en compuestos químicos sintéticos. Ante esta situación, la medicina de la producción animal ha experimentado un proceso de evolución con tendencia a la búsqueda de productos naturales que reemplacen el uso excesivo de drogas que contienen productos que presentan la desventaja adicional de contaminar el medio ambiente. El objetivo de esta revisión es brindar a la comunidad

científica un documento de consulta sobre plantas con propiedades antihelmínticas que ayudan a mitigar el problema de resistencia del nematodo *H. contortus* en ovinos. Esta revisión sintetiza los principales resultados de 50 estudios publicados en los últimos 10 años (2006 hasta 2017), enfatizando en la efectividad obtenida contra *H. contortus*. Adicionalmente se discuten aspectos de patogenia, resistencia a antiparasitarios y el modo de acción de los compuestos bioactivos de algunas plantas usadas para combatir *H. contortus* en ovinos.

Palabras clave: Nematodos gastrointestinales, pequeños rumiantes, fitoquímicos, taninos.

***Haemonchus contortus* in sheep: pathogenicity, resistance and anthelmintic effect of bioactive compounds in plants**

4.2. Abstract

The gastroenteric nematode *Haemonchus contortus* causes significant economic losses in sheep flocks from México and other countries. In addition to the damages on sheep's health and productivity, they have demonstrated resistance against antiparasitic agents based on synthetic compounds. Against this background, animal production medicine have experienced an evolution process searching for natural products that may replace the excessive use of drugs with chemicals that have the additional disadvantage of contamination our environment. The goal of this review is to present a consultation paper about plants with anthelmintic properties that helps to mitigate the problem of resistance of the nematode *H. contortus* in sheep. This review summarize the main findings of 50 research studies published during the last 10 years (2006 to date), with emphasis in the effectiveness observed against *H. contortus*. In addition, we discussed generalities about pathogenicity, resistance to anthelmintics as well as mode of action of bioactive compounds in some plants used to control *H. contortus* in sheep.

Key words: Gastroenteric nematode, small ruminants, phytochemicals, tannins.

4.3. Introducción

Los parásitos gastroentéricos y externos del ganado siguen siendo uno de los orígenes fundamentales de mermas económicas substanciales en América Latina y otras regiones pecuarias del trópico y subtrópico, además de zonas con climas templados en el mundo (Barrabí-Puerta y Arece-García 2013; Zapata et al., 2013; Rodríguez et al., 2015; Singh et al., 2015). En Australia, las pérdidas anuales debidas a esta enfermedad se han estimado en más de 400 millones de dólares (USD) por tratamientos, mientras que en países como Kenia, África del Sur y la India han llegado a costos de hasta 26, 46 y 103 millones de dólares, respectivamente (Qadir et al., 2010; Alba-Hurtado et al., 2012). Los parásitos adultos de *H. contortus* pueden ingerir hasta 0.05 mL de sangre/parásito/día, recurriéndose a este parámetro para evaluar la virulencia del mismo (Angulo-Cubillán et al., 2007; Alba-Hurtado et al., 2012; Zapata et al., 2013). La necesidad de opciones para el control parasitario nace de los reportes de resistencia de los nematodos a las diferentes drogas antiparasitarias (Van Wyk, 2001).

La resistencia a los antiparasitarios se define como el aumento significativo de los individuos de una población parasitaria capaces de soportar niveles de un fármaco que han probado ser letales para la mayoría de los individuos de la misma especie (González-Garduño et al., 2014). El control de nematodos gastrointestinales (NGI) en rumiantes se ha realizado con grandes logros durante más de 40 años a través del uso de productos químicos. Sin embargo, en los últimos años se ha manifestado un incremento en resistencia por la población de parásitos a nivel mundial, por lo que han florecido inconvenientes e inquietud por la posible contaminación que surge debido al uso de estos fármacos en la producción animal (residuos en alimentos y en el ambiente). Es por esto que diversos investigadores se han centrado en los ensayos de opciones naturales para el control de los NGI, entre las cuales se incluye el uso de plantas con propiedades antihelmínticas o forrajes bioactivos, productos de plantas y metabolitos secundarios de plantas (Barrabí-Puerta y Arece-García, 2013).

La Organización Mundial de la Salud reconoce que el 85% de los habitantes de los países en desarrollo aún se encuentran dependientes de la medicina tradicional para la atención tanto de la salud humana como animal. Por otra parte y de forma paradójica, se reconoce que los productos vegetales son una fuente alta de nutrientes y de moléculas bioactivas de origen natural principalmente fenólicos, flavonoides y taninos (Singh et al., 2015). Aguilar (2012) explica que dentro de las opciones diferentes a los productos sintéticos para la regulación de nematodos gastroentéricos se encuentran el uso de extractos de plantas y taninos condensados, entre otros.

Por tanto, el objetivo de esta revisión fue recopilar información relativa a plantas utilizadas con efectos letales sobre *Haemonchus contortus* y conocer su nivel de efectividad como ovicida y/o larvicida, para así lograr contribuir al rescate y la difusión del conocimiento etnofarmacológico, propiciando el desarrollo de nuevas alternativas para el control antihelmíntico.

4.4. Patogenia de *Haemonchus contortus*

Haemonchus contortus se alimenta de sangre en el estómago (abomaso) y provoca gastritis, anemia y complicaciones asociadas, incluso la muerte en animales gravemente afectados. Este nematodo se transmite oralmente del pasto contaminado al huésped a través de un ciclo de vida complejo: los huevos se excretan en las heces del huésped y se incuban en larva de primera etapa (L₁), por lo general dentro de un día, y luego se desarrollan hasta el segundo (L₂) y tercer (L₃) estadios larvales en aproximadamente una semana. Las L₃ infecciosas son ingeridas por el huésped, sufren un devainamiento (xL₃) y, después de una fase histotrófica, se desarrollan a través de larvas de cuarto estadio (L₄) a adultos dioicos (dentro de 3 semanas) en el abomaso (Kumarasingha et al., 2016).

Los nematodos gastrointestinales de las ovejas se transmiten horizontal y directamente. Muchos factores asociados con esta relación determinan el tipo y la gravedad de la infección. Los factores relacionados con el huésped son la edad, inmunidad, sexo, especie y resistencia genética; los factores relacionados con el parásito incluyen la historia de vida, la duración de la fase histotrófica, la supervivencia de las larvas en el medio ambiente y su

localización en el huésped; por otro lado, los factores ambientales incluyen el clima, la estación del año y el tipo de vegetación (Roeber et al., 2013).

La calreticulina (CalR) es una proteína multifuncional secretada por *Haemonchus contortus*. Se ha observado que esta proteína se une a un polipéptido de 24 kDa (p24) presente en una preparación enriquecida de protrombina. La identidad de p24 se estableció como una proteína C-reactiva (CRP) por varios criterios. La unión de (CalR) a la PCR es una estrategia desarrollada por el parásito para sobrevivir en el huésped. El CalR secretado puede realizar esta función limitando la concentración libre de CRP, el cual tiene actividad antiparasita o inhibe la activación de la vía clásica del complemento desencadenada en la unión de CRP a la proteína C1q. La unión de CalR a la CRP también aseguraría un control de la actividad procoagulante de la CRP, permitiendo que el parásito se alimente de la sangre huésped. La focalización de CalR podría ser una estrategia novedosa que ha proporcionado resistencia a muchos antihelmínticos para hacer frente a este parásito. Para sobrevivir en el huésped, el parásito secreta moléculas colectivamente referidas como excretor/productos de secreción, que ayudan en la penetración en el tejido huésped, alimentación de sangre, evasión inmune y así sucesivamente (Suchitra et al., 2008).

Estudios recientes han proporcionado herramientas avanzadas de PCR para respaldar los estudios epidemiológicos y apoyar investigaciones sobre la naturaleza y el alcance de la resistencia, en combinación con técnicas parasitológicas convencionales, como la prueba de conteo de reducción de huevos en heces. Estas herramientas de PCR se desarrollaron para superar las restricciones de los métodos tradicionales que no han sufrido mejoras durante muchos años. En contraste con las tradicionales, estas herramientas permiten ahora estudios detallados de especies y géneros individuales de nematodos que antes no eran posibles, proporcionando una base sólida para estudios epidemiológicos (Roeber et al., 2013).

4.5. Antecedentes de resistencia a fármacos y uso de productos naturales

La fenotiazina fue el primer agente antihelmíntico de "amplio espectro" que tuvo uso general a finales de los años treinta. Los estudios de actividad estructural no crearon análogos útiles. En los años siguientes fue ampliamente utilizado en ganado contra una

gama bastante amplia de nematodos gastrointestinales. Sin embargo, la toxicidad limita su uso a rumiantes, caballos y pollos, evitándose su uso en cerdos, perros, gatos y seres humanos (Mehlhorn, 2016).

La resistencia ha sido reportada contra las tres familias antihelmínticas actuales de amplio espectro y en algunos países las resistencias antihelmínticas múltiples son ahora un fenómeno común (Jackson y Hoste, 2010). Los antihelmínticos de amplio espectro tradicionalmente disponibles para el tratamiento de las infecciones gastrointestinales de nematodos en rumiantes están limitados comercialmente a tres clases de fármacos, a saber, bencimidazoles, imidazotiazoles /tetrahidropirimidinas y lactonas macrocíclicas, que se han utilizado ampliamente durante unos 30 a 50 años. Se han lanzado nuevas clases en los últimos años, representado por emodepside, monepantel, y derquantel, pero estos medicamentos son bastante caros y tienen muy limitadas reivindicaciones de etiqueta para la eficacia (Buttle et al., 2011). La resistencia del benzimidazol frente a *Haemonchus contortus* se observó muy temprano después de su introducción por Drudge et al. (1964), de forma similar, la resistencia a levamisole-morantel a *H. contortus* fue detectado en ovejas por Le Jamber (1976), de acuerdo a Handullah et al. (2015). Se cree tradicionalmente que algunas plantas muestran actividad antihelmíntica contra parásitos gastrointestinales de rumiantes, pero su eficacia debe evaluarse científicamente (Morais-Costa et al., 2015).

Estudios con bases genéticas sobre la resistencia de los nematodos a productos químicos comerciales representan un gran reto debido a las características específicas que son requeridas durante el periodo del nematodo en el animal hospedero. Sin embargo, los avances actuales sobre la secuenciación del genoma de los nematodos están empezando a proporcionar herramientas para comprender la naturaleza genética de la resistencia (Beech et al., 2011). Un claro ejemplo de esto es el Proyecto del Genoma de *H. contortus*, el cual ha conducido al resultado de alrededor de 280 Mb de ensamblaje de secuencias (Laing et al., 2013). Los estudios de genética molecular sobre resistencia a antihelmínticos se han basado en el grupo de benzimidazoles usando como modelo al *H. contortus* debido a la presencia del polimorfismo de un solo nucleótido F200Y, y más recientemente al SNP llamado E198A (Kwa et al., 1994, 1995). Se han detectado que E198A ocurrió con mayor frecuencia que F200Y en poblaciones de campo. Los resultados también confirmaron una alta diversidad genética dentro de cada población y un alto flujo de genes entre todas las

poblaciones de *H. contortus* estudiadas (von Samson-Himmelstjerna et al., 2007; Kotze et al., 2012). Análisis de la relación genética sugiere que F200Y tuvo múltiples orígenes en China, mientras que E198A tenía dos orígenes distintos (Cai et al., 2007). Considerando que la producción de pequeños rumiantes es una de las industrias ganaderas más importantes de China, el uso de antihelmínticos, incluyendo BZ, parece inevitable en este punto y se aconseja que será de considerable importancia desarrollar directrices para el control de parásitos y las prácticas de gestión en China con el objeto de reducir la presión de selección para la resistencia a antihelmínticos (Cai and Bai, 2009; Zhao et al., 2010). También será importante desarrollar estrategias de manejo de parásitos adaptadas a las granjas individuales de ganado, incluyendo tratamientos de cuarentena de ganado importado, empleando combinaciones adecuadas de fármacos para tratamiento estratégico, identificando refugios en huéspedes con parásitos susceptibles y monitoreando cuidadosamente la resistencia antihelmíntica usando herramientas moleculares (Zhang et al., 2016).

Min y Hart (2003) y Paolini et al. (2003) informaron que los forrajes ricos en taninos condensados son de gran ayuda para combatir la resistencia a los antiparasitarios, logrando reducir la infestación parasitaria en heces y pastos. Después de administrar los taninos, se ha observado una disminución en el conteo de huevos que persiste hasta después de culminar con el tratamiento. Álvarez et al. (2007), buscando controles no farmacológicos de nematodos gastroentéricos en heces de ovinos, realizaron un experimento utilizando diferentes fuentes de aserrín de madera: pochote (*Bombacopsis quinata*), melina (*Gmelina arborea*), ciprés (*Cupressus lusitanica*) y teca (*Tectona grandis*), encontrando que los diferentes aserrines tuvieron una alta eficacia inhibitoria en el desarrollo larval utilizando como testigo al Laurel (*Cordia alliodora*), reportando mayor inhibición con ciprés (*Cupressus lusitanica*), que alcanzó 97.94% de eficacia.

Daryatmo et al. (2010) seleccionaron 15 plantas utilizadas como alimento de cabra por los agricultores locales en Yogyakarta, Indonesia, para detectar la actividad antihelmíntica *in vitro* midiendo la inhibición de la eclosión de huevos de *Haemonchus contortus*. Los materiales vegetales se tamizaron para determinar la presencia de tanino total soluble en agua. El potencial antihelmíntico *in vitro* de los 15 forrajes tropicales se evaluó utilizando

infusiones acuosas (50%, partes/volumen) del material vegetal. Las hembras parásitas adultas de *Haemonchus contortus* fueron recogidas de los abomasos de cabras obtenidas del rastro y concluyeron que las 15 plantas ensayadas resultaron con propiedades antihelmínticas. Los contenidos de taninos de las 15 plantas oscilaron entre 0.34-2.89% de materia seca. Además de su potencial en el uso para alimentación animal, estas plantas pueden ser utilizadas como soporte a la salud animal tradicional, siendo las de mayor porcentaje de inhibición eclosión de huevos *Manihot esculenta* Crantz, *Artocarpus heterophyllus* y *Swietenia mahagony* con 79.15, 78.72 y 74.14%, respectivamente. Los autores proponen que se proceda a realizar los respectivos experimentos *in vivo* para identificar si existen efectos negativos, antes de recomendar su uso.

Veinte extractos de plantas localizadas en Sierra de Huautla, Morelos, México, fueron estudiados *in vitro* contra larvas infectantes de *Haemonchus contortus*. Las especies evaluadas fueron *Bursera copallifera*, *B. grandifolia*, *Lippia graveolens*, *Passiflora mexicana*, *Prosopis laevigata*, *Randia echinocarpa* y *Urtica dioica*. La mayor mortalidad se observó con extracto hexánico combinado de tallo y hojas de *Prosopis laevigata*, que produjo 51, 81 y 86% de mortalidad de larvas a las 24, 48 y 72 h después de la exposición, respectivamente. Por otra parte, el extracto acetónico de vástago de *Bursella copallifera* exhibió 18, 59 y 66% de actividad nematocida después de 24, 48 y 72 h de exposición, respectivamente (López-Aroche et al., 2008).

Lucas et al. (2008) investigaron sobre el contenido total de taninos, total de fenoles y total de taninos condensados en variedades de plantas tropicales taníferas de zonas áridas y semi-áridas de Brasil, *Ipomoea* sp., *Caesalpinia pyramidalis* Tul. y *Astronium urundiuva* Engl, y de acuerdo a los valores encontrados consideran que se encuentran dentro del rango de niveles de seguridad y que probablemente no causen complicaciones en la nutrición ruminal de hatos ganaderos. El efecto antihelmíntico de los taninos condensados de *Acacia pennatula*, *Lysiloma latisiliquum*, *Piscidia piscipula* y *Leucaena leucocephala* fueron evaluados a diferentes concentraciones *in vitro* por Calderón-Quintal et al. (2010) a concentración de 600 µg/ml, obteniendo un porcentaje de inhibición de motilidad larval de *H. contortus* de 47.83, 35.49, 62.81 y 56.59%, respectivamente.

Moreno et al. (2010) evaluaron el efecto *in vitro* de extracto de hojas de plantas en la migración de larvas infectantes (L₃) de *Haemonchus placei*, *Cooperia* sp., *Haemonchus*

contortus, *Trichostrongylus colubriformis*, encontrando que las plantas con mayor inhibición de la migración larval contra estas especies de nematodos fueron *Callitris*, concluyendo que se deberán efectuar ensayos *in vivo* para fortalecer los resultados *in vitro*. Se utilizaron larvas infestantes L₃ debido a que las larvas adultas no sobreviven fuera del hospedador, imposibilitando las pruebas *in vitro*.

Martínez-Ortiz-de-Montellano et al. (2010) estudiaron la planta *Lysiloma latisiliquum* realizando una prueba *in vivo* con 20 ovejas de pelo, utilizando mediciones de conteos de huevos en heces y necropsias para estudiar el contenido abomasal, confirmando la actividad antihelmíntica contra *Haemonchus contortus*. La composición del *L. latisiliquum* a corto plazo puede controlar directamente la biología del adulto *H. contortus* afectando el tamaño del parásito y la fecundidad de la hembra al deformar los órganos genitales. Villalba et al. (2010) confirman que los pequeños rumiantes ingieren en forma voluntaria forrajes ricos en taninos cuando sienten la necesidad ocasionada por la presencia de nematodos gastroentéricos. Por su parte, Kommuru et al. (2015) señalan que *Sericea lespedeza* (SL; *Lespedeza cuneata*) es un forraje perenne rico en taninos condensados (TC) con actividad antihelmíntica contra los nematodos gastrointestinales de los pequeños rumiantes, específicamente *Haemonchus contortus*, altamente patógeno y hematófago, pero el mecanismo de acción de TC contra *H. contortus* aún no se entiende en forma totalmente clara.

Ensayos realizados por Buttle et al. (2011) muestran que las enzimas del látex de la papaya (proteinasas) modifican la estructura de la cutícula (exosqueleto del nematodo), formando ampollas rompiendo la cutícula, lo que provoca la exposición de órganos internos como esófago, intestinos y órganos reproductores, conduciendo a la muerte del gusano. El problema de la resistencia antihelmíntica, además de la creciente preocupación por la presencia de residuos de fármacos en productos de origen animal, ha llevado a un mayor interés en el uso de fitoterapéuticos (Macedo et al., 2012). Los compuestos vegetales pueden interactuar con las proteínas de la cutícula, cavidad oral, esófago, cloaca y vulva de nematodos, modificando sus propiedades químicas y físicas (Silveira et al., 2012). Hoy en día, la resistencia antihelmíntica es de gran preocupación para la industria ovina y caprina. En Europa, la resistencia a la moxidectina (MOX) se ha descrito en Alemania en *Haemonchus contortus*, en el Reino Unido en *Teladorsagia circumcincta* y recientemente a

MOX inyectable de acción prolongada en el noroeste de España y no tan comunes como la resistencia a la ivermectina (IVM) y a la doramectina (DRM), de acuerdo a Van den Brom et al. (2013).

La utilización de cápsula de albendazol de 100 días de liberación lenta Extender 100 no tuvo ningún efecto beneficioso sobre las cargas resistentes de parásitos de *H. contortus*, medida por el recuento de huevos fecales y las puntuaciones FAMACHA, así como en el aumento de peso y tasa de concepción con base en los resultados de este ensayo, el uso de este producto en granjas con resistencia albendazol severa conocida, probablemente está contraindicado, ya que posiblemente exacerbará el problema de resistencia a antihelmínticos mediante la selección de gusanos, sin ningún beneficio positivo para las ovejas o el dueño (Fisher y Van Sittert, 2013).

Evitar la selección a la resistencia es una característica importante del control moderno del parásito, especialmente cuando la proporción de los nematodos expuestos a los antihelmínticos en comparación con en los pastos es alta en el momento del tratamiento. Estas medidas de control son aún más importantes teniendo en cuenta que la reversión a largo plazo a la susceptibilidad es inusual o, con toda probabilidad, no ocurre dentro de rebaños (Van den Brom et al., 2013). Muhammad et al. (2014) recomiendan utilizar la dosis antihelmíntica adecuada con una rotación de un intervalo de 3-4 meses para minimizar la infección por nematodos y mejorar la productividad de las ovejas y cabras. Varios estudios han informado de que el efecto de los extractos de plantas en gusanos adultos puede ser observado sólo a concentraciones muy altas. El extracto de metanol de *Artemisia brevifolia* a concentración de 25 mg/ml mostró un efecto antihelmíntico *in vitro* significativo, mientras que el extracto acuoso del mismo compuesto no tuvo efecto importante (Akkari et al., 2016).

Por tanto, es importante mencionar el mecanismo de acción de los principales metabolitos presentes en las plantas utilizadas como control natural contra NGI. Estos metabolitos son: taninos condensados, flavonoides, saponinas y terpenos.

4.6. Modo de acción de los taninos condensados

Aparentemente, el mecanismo de acción de los taninos sobre las larvas infectantes (L3) de *H. contortus* y *T. colubriformis* consiste en evitar que estos parásitos desenvainen. Esto

evita que los mencionados NGI puedan establecerse en su sitio de acción y continúen con su ciclo evolutivo. También se ha estudiado el mecanismo de acción de los TC en los nematodos adultos, donde al parecer existe un mecanismo de acción diferente, ya que es posible que los TC se unan a la boca y también al aparato reproductor de los parásitos por la afinidad de los TC a las proteínas ricas en prolina de la cutícula del nematodo (Torres-Acosta et al., 2008; Hoste et al., 2012).

El modo de acción de los TC *in vivo* no está claro. *H. contortus* es un nematodo abomasal hematófago voraz. Por lo tanto, los TC deben ser transferidos del intestino a la circulación para ser eficaces hacia el parásito. Sin embargo, existen pruebas que indican que TC no entra en el torrente sanguíneo. Y esto es corroborado por el hallazgo de que el gusano del pulmón (*Dictyocaulus spp.*) no fue afectado en ciervos rojos alimentados con TC. Los TC reaccionan con las proteínas de alimentación una vez que llegan al rumen pero se separan en gran parte de las proteínas cuando la ingesta alcanza el abomaso debido al bajo pH. La presencia de TC libres en la ingesta sugeriría entonces una ruta transcuticular de entrada a los parásitos para los taninos, pero esto queda por dilucidarse (Debela et al., 2012).

Se ha informado que los TC interrumpen el proceso de desprendimiento de la vaina en L₃, impidiendo así el establecimiento de larvas infecciosas en el huésped y consecuentemente la infección (Macedo et al., 2012). Los TC podrían actuar indirectamente, mejorando la respuesta del herbívoro al parásito. Al hacer que la proteína no esté disponible para la digestión y la absorción hasta que alcanza el abomaso, más ácido y el intestino delgado. Esta proteína de bypass de alta calidad mejora las respuestas inmunitarias y aumenta la resistencia a los nematodos gastrointestinales. Los TC pueden actuar también directamente mediante la unión a la cutícula nematodo-a prolina y la estructura, rica en hidroxiprolina, que cubre el cuerpo de nematodos. Los extractos de plantas con TC también pueden afectar el desvainamiento de las larvas de la tercera etapa, un proceso dominante en las etapas muy tempranas de la invasión larval al anfitrión (Copani et al., 2013).

Los mecanismos propuestos de la bioactividad antihelmíntica de los TC implican la unión directa de los mismos a las proteínas de los nematodos, que posteriormente bloquea los procesos fisiológicos del parásito y / o modifica sus respuestas inmunitarias del huésped para eliminar larvas infecciosas o gusanos adultos (Zhong et al., 2014).

Estudios diseñados para probar la captación de taninos por parásitos *in situ* indican que los taninos perturban los procesos fisiológicos de los nematodos mediante la unión a las proteínas del parásito directamente y posteriormente el bloqueo de los procesos fisiológicos, modificando las respuestas inmunes del huésped para eliminar larvas infectantes o gusanos adultos (Zhong et al., 2014). De acuerdo a Mondal et al. (2015), los TC producen actividad antihelmíntica a través de una serie de mecanismos que incluyen desacoplamiento de la fosforilación oxidativa, actividad antioxidante y su capacidad para unirse con metales y proteínas.

4.7. Modo de acción de los flavonoides

Se considera generalmente que las propiedades antihelmínticas de los extractos de las plantas están relacionadas con su contenido en taninos condensados. Sin embargo, los ensayos *in vitro* sugieren que algunas otras moléculas flavonoides, flavanoles, también podrían poseer propiedades antihelmínticas. La relación dependiente de la dosis entre la concentración de taninos y/o compuestos flavonoides y la actividad antihelmíntica ha sido repetidamente demostrada tanto en ensayos *in vitro* como *in vivo*. Se ha sugerido que los antioxidantes de flavonoides podrían tener una actividad antihelmíntica (Akkari et al., 2014).

Varios compuestos fenólicos simples (como el ácido gálico, ácido cafeico y los flavonoides) que dan lugar a los taninos, también son conocidos por ejercer una acción antihelmíntica (Mondal et al., 2015). La eclosión de los huevos de nematodos comienza por estímulos ambientales que producen la liberación por parte de la larva de enzimas tales como proteasas, lipasas y quitinasas con funciones de degradar la membrana del huevo. Los compuestos flavonoides podrían actuar inhibiendo la actividad de estas enzimas. El efecto antiparasitario de los flavonoides se atribuye a cambios en la actividad de las enzimas y/o procesos metabólicos de los parásitos (Olimpia et al., 2016).

Se ha sugerido que los flavonoides antioxidantes pueden tener una actividad antihelmíntica y la concentración de antioxidantes son también un indicador de flavonoides que pueden potenciar antihelmínticos comerciales (Akkari et al., 2016). Por otro lado, se ha demostrado repetidamente la relación dependiente de la dosis entre la concentración de

taninos y/o compuestos flavonoides y la actividad antihelmíntica tanto en ensayos *in vitro* como *in vivo* (Akkari et al., 2016). Los flavonoides extraídos de *Trema orientalis*, *Urtica dioica* y *Zanthoxylum capense* inhibieron la migración larvaria de *Haemonchus contortus* tanto como los taninos condensados. La precipitación secuencial fraccionada de los flavonoides que se producen en el material vegetativo de la planta junto con taninos condensados usando polivinilpirrolidona (PVPP) eliminó la actividad inhibidora de la migración de larvas (Fomum et al., 2017).

4.8. Modo de acción de las saponinas

La información sobre las propiedades antiparasitarias específicas de saponinas es limitada, aunque se han observado sus efectos antiparasitarios de una variedad de plantas y extractos a veces con reducciones de huevos por gramo de heces hasta de un 80%. La acción antiparasitaria de saponinas es debido a las gestiones antiproliferativas directas atribuidas a cambios en el potencial e integridad de la membrana (Copani et al., 2013).

Los compuestos saponósidos usualmente actúan uniéndose a moléculas superficiales (proteínas o esteroides) que inducen inhibición de la expresión de la proteína, y/o lisis de la célula. La expresión de las proteínas superficiales de los nematodos es específica del estadio larval. Por otra parte, los estudios han informado sobre una dosis dependiente con efecto paralizante muscular de un extracto de la raíz del árbol de banano. El bloqueo neuromuscular se invirtió por el calcio, lo que sugiere que el jugo del tallo del plátano tiene un efecto labilizante sobre el calcio celular. Los saponósidos en el extracto metanólico podrían unirse específicamente a las proteínas superficiales de la fase de desarrollo larvario del parásito, explicando la eficacia específica mayor de este extracto. Estos compuestos podrían actuar inhibiendo el desarrollo larvario de *H. contortus* y causando su muerte (Marie-Magdeleine et al., 2014).

Los mecanismos sugeridos implicados en la actividad antihelmíntica de saponinas incluyen disrupción de la permeabilidad de la membrana celular a través de la formación de poros, desintegración de los tegumentos en el sitio específico, inhibición de la fosfodiesterasa de cAMP y Na⁺/K⁺ ATPasa (Mondal et al., 2015). El extracto etanólico de fruta cruda de

Opuntia ficus-indica y el extracto etanólico del cladodio crudo, mostraron una inhibición significativa de la migración de larvas con valores de EC50 de 0,27 y 0,74 mg / ml, respectivamente, con una respuesta dosis-dependiente. Las saponinas y taninos en estos extractos pueden actuar conjuntamente; las saponinas interactúan con las membranas celulares, dando lugar a la desestabilización y posterior aumento de la permeabilidad celular que facilita la acción de los taninos sobre las proteínas intracelulares del parásito (Féboli et al., 2016).

4.9. Modo de acción de terpenos

Se sabe que los compuestos terpenoides son activos frente a una amplia gama de organismos. Algunos de ellos pueden ser bioactivos, mientras que otros pueden afectar a las variables físicas. Se sabe que los terpenoides y los flavonoides detienen el desarrollo larvario de *H. contortus* (Marie-Magdeleine et al., 2014).

Los compuestos bioactivos de plantas podrían actuar de la siguiente manera:

1. Prevención de cambios en la permeabilidad de la cáscara del huevo. Si los MSP se unen a las lipoproteínas de las membranas de la cáscara del huevo, podría prevenir el cambio requerido en la permeabilidad de la cáscara del huevo, evitando la liberación normal de sustancias de eclosión como la trehalosa, que afecta la presión osmótica en el huevo y que perjudica la eclosión.
2. Inhibición de las enzimas responsables de la eclosión de huevos. Si los MSP se une a las enzimas responsables de la eclosión, bloqueando la acción de las sustancias que degradan la cáscara del huevo, la inactivación de estas enzimas (es decir, metaloproteasas, lipasas, aminopeptidasas, etc.) puede causar una reducción en la velocidad de eclosión o incluso detener completamente el proceso.
3. Competencia con factores receptores de eclosión en la cáscara del huevo; durante el proceso de eclosión existen varios mecanismos de señalización ambiental, la participación de una interacción receptor-ligando entre las membranas de lipoproteína de cáscara de huevo se ha propuesto como un importante mecanismo de eclosión. Recientemente, las enzimas peptidasas se proponen como mediadores

de eventos de señalización. Es posible que los MSP pueda unirse competitivamente a factores de eclosión en la cáscara del huevo, lo que podría resultar en un alto o un retraso del proceso de eclosión (Vargas-Magaña et al., 2014).

El sinergismo suele desempeñar un papel importante para mejorar la bioactividad de extractos de plantas. Así, los productos vegetales que contienen una gama de fitoquímicos con acción antihelmíntica a menudo puede ser una buena opción para controlar la helmintiasis (Mondal et al., 2015).

La Tabla 1 muestra la información obtenida de 48 especies vegetales reportadas con efectos antihelmínticos para el control de *Haemonchus contortus* en diferentes regiones. Estos datos pertenecen a diferentes familias botánicas como son fabáceas, asteraceae, anacardia, annonaceae, araceae, lamiaceae y verbenaceae. Cabe señalar que destaca con mayor eficiencia en porcentaje para la inhibición de eclosión de huevos *Coriandrum sativum*, de la familia Apiaceae, que obtuvo 100% de inhibición de eclosión de huevos de *H. contortus* a 0.15 mg mL^{-1} (Figura 3). Es indudable que las plantas aún conservan compuestos cuya utilidad medicinal no se ha descubierto ni aprovechado por la mayoría de los productores pecuarios.

La concentración vegetal más eficiente la reporta *Acacia molissima* con 100% de mortalidad de L₃ a una concentración de 0.155 mg mL^{-1} (Figura 4).

Tabla 1. Aporte cronológico a la fitoterapia para el nematodo gastroentérico *Haemonchus contortus* (Hc) en ovinos y caprinos.

Año	Autor	Planta	Tipo de estudio	Vehículo/ Disolvente	Resultados obtenidos
2006	Eguale et al.	<i>Coriandrum sativum</i>	<i>In vitro</i>	Agua y agua/alcohol	Inhibición completa de eclosión de huevos vs Hc a 0.15 mg mL ⁻¹ . ED(50) de extracto acuoso fue 0.12 mg mL ⁻¹ y de extracto hidroalcohólico 0.18 mg mL ⁻¹
2008	Minho et al.	<i>Acacia molissima</i>	<i>In vivo</i>	Acuoso	Con 0.155 mg mL ⁻¹ hubo efectos inviables en 100% de L1 de Hc.
2009	Ademola et al.	<i>Combretum molle</i>	<i>In vitro</i>	Metanol/agua	La CL ₅₀ en inhibición de eclosión de huevo fue 0.07 mg/ ml; la CL ₅₀ fue 0.32 mg mL ⁻¹ en viabilidad y desarrollo larval
2009	Bachaya et al.	<i>Acacia nilotica</i>	<i>In vitro</i>	Metanol	CL ₅₀ =512.9 µg mL ⁻¹ para inhibición de eclosión 195.0 µg mL ⁻¹ para desarrollo larval.
2009	Bachaya et al.	<i>Ziziphus nummularia</i>	<i>In vitro</i>	Metanol	CL ₅₀ =676.1 µg mL ⁻¹ para inhibición de eclosión. 398.1 µg mL ⁻¹ para desarrollo larval.
2009	Oliveira et al.	<i>Cocos nucifera</i> L.	<i>In vitro/ in vivo</i>	Acetato de etilo	A 5 mg/ml obtuvo 100% en inhibición de eclosión. A 80 mg mL ⁻¹ obtuvo 99.8% de inhibición de desarrollo larval. A 400 mg/kg se obtuvo una media eficaz de 4.77% contra Hc adultos (<i>In vivo</i>).

2010	Adamu et al.	<i>Acanthus montanus</i>	<i>In vitro</i>	Agua	A 25 mg mL ⁻¹ obtuvo 91.8% reducción de eclosión de huevos. A 200 mg mL ⁻¹ inhibió desarrollo larval en 67.0%.
2010	Nery et al.	<i>Anacardium humile</i>	<i>In vitro</i>	Acuoso y etanólico.	DL ₅₀ a 10.14 mg mL ⁻¹ inhibió desarrollo larval en extracto acuoso y DL ₅₀ a 23.2 mg mL ⁻¹ inhibió desarrollo larval en extracto etanólico.
2010	Quadir et al.	<i>Coriandrium sativum</i>	<i>In vivo</i>	Acuoso	A menos de 0.5 mg mL ⁻¹ inhibe eclosión de huevos.
2010	Qadir et al.	<i>Annona senegalensis</i>	<i>In vitro</i>	Acuoso	A 7.1 mg mL ⁻¹ reduce eclosión de huevos.
2011	Ademola et al.	<i>Vernonia amygdalina</i>	<i>In vitro</i>	Metanol / acuosos	Se observó que la concentración letal (CL ₅₀) contra huevos fue de 224 µg mL ⁻¹ . La CL ₅₀ en viabilidad larval fue de 196.6 µg mL ⁻¹ .
2011	Alemán et al.	<i>Rhizophora mangle L.</i>	<i>In vitro</i>	Acuoso, metanólico (lixiviación de corteza) y acuoso total (extracción directa de corteza).	A concentración de 50 mg mL ⁻¹ , los tres extractos reducen desarrollo de L ₃ con 64.1% de efectividad a 4 d postratamiento.
2011	Hussain et al.	<i>Trianthema portulacastrum</i>	<i>In vivo</i>	Acuoso y metanol	Reducción de 85.6% huevos por gramo de heces a 8 g Kg ⁻¹ (Hc).
2011	Hussain et al.	<i>Musa paradisiaca</i>	<i>In vivo</i>	Acuoso y metanol	Reducción de 80.7% huevos por gramo de heces a 8 g Kg ⁻¹

2011	Kamaraj et al.	<i>Andrographis paniculata</i>	<i>In vitro</i>	Acetato de etilo, acetona y metanol	ED ₅₀ de extracto en eclosión de huevos fue 2.9 mg mL ⁻¹ . Y se obtuvo 100% de inhibición de eclosión de huevos e inhibición desarrollo larval a 25 mg mL ⁻¹ .
2011	Kamaraj et al.	<i>Annona squamosa</i> <i>Datura metel</i>	<i>In vitro</i>	Metanol	100% de inhibición de eclosión de huevos e inhibición desarrollo larval a 25 mg mL ⁻¹ (ambas plantas).
2011	Eguale et al.	<i>Leucas martinicensis</i> <i>Leonotis ocymifolia</i> <i>Senna occidentalis</i> <i>Albizia schimperiana</i> <i>Rumex abyssinicus</i>	<i>In vitro</i>	Hidroalcohólico y acuoso	Inhibición completa de eclosión de huevos a concentración menor o igual a 1mg mL ⁻¹ (Todas las plantas).
2011	Eguale et al.	<i>Leonotis ocymifolia</i> <i>Leucas martinicensis</i> <i>Albizia schimperiana</i> <i>Senna occidentalis</i>	<i>In vitro</i>	Acuoso	Con la planta se obtuvo 100% de inhibición del desarrollo larval a 50 mg mL ⁻¹ ; y con Lm, As, y So se observó 99.9%, 99.3% y 96.4% respectivamente.
2011	Monteiro et al.	<i>Jatropha curcas L.</i>	<i>In vitro</i>	Etanol	A 50 mg mL ⁻¹ inhibió la eclosión de huevos en un 99.8%.
2012	Arece et al.	<i>Dichrostachys cinerea</i>	<i>In vitro</i>	Acuoso	La inhibición de desarrollo larval a 500 mg mL ⁻¹ fue de 8.9%
2012	Arece et al.	<i>Dichrostachys</i>	<i>In vitro</i>		Eclosión de huevos de 66.5 % a 125

		<i>cinerea</i>		Acuoso	mg mL ⁻¹
2012	Macedo et al.	<i>Mentha villosa</i>	<i>In vitro</i>	Acuoso	A 2.5 mg mL ⁻¹ se obtuvo 97.6% de inhibición de eclosión de huevo.
2012	Macedo et al.	<i>Tagetes minuta</i>	<i>In vitro</i>	Acuoso	A 2.5 mg mL ⁻¹ se obtuvo reducción de eclosión de huevo en 96.8%. EC ₅₀ fue de 0.66 mg/ml
2012	Son-de Fernex et al.	<i>Arachis pintoi</i>	<i>In vitro</i>	Acuoso / acetona	A concentración de 1200 µg mL ⁻¹ inhibió 100% del desvainamiento L ₃ de <i>Hc</i> .
2012	Son-de Fernex et al.	<i>Gliciridia sepium</i>	<i>In vitro</i>	Acuoso / acetona	A concentración de 1200 µg mL ⁻¹ inhibió migración larval en 39.2%
2012	Son-de Fernex et al.	<i>Cratylia argentea</i> 22386	<i>In vitro</i>	Acuoso / acetona	A concentración de 1200 µg mL ⁻¹ inhibió migración larval en 66%.
2012	Son-de Fernex et al.	<i>Cratylia veranera</i>	<i>In vitro</i>	Acuoso / acetona	A concentración de 1200 µg mL ⁻¹ inhibió migración larval en 35.9%
2013	Barrabí-Puerta et al.	<i>Azadirachta indica</i> A. Juss	<i>In vitro</i>	Acuoso	A 500 mg mL ⁻¹ (Extracto semilla) redujo eclosión en 99.1% y 88.8% de desarrollo larval hacia L ₃
2013	De Aquino et al.	<i>Eucalyptus staigeriana</i>	<i>In vivo</i>	Emulsión quitosano	Eficacia de 83.75% contra nematodos abomasales a 365 mg/kg (hidrogel).
2013	Ferreira et al.	<i>Annona muricata</i> L	<i>In vitro</i>	Acuoso	Diluido al 50% inhibió eclosión de huevo en 84.91%. Diluido al 25% inhibió motilidad larval en 89.1% contra <i>Hc</i> .

2013	Domingues et al.	<i>Ananas comosus</i>	<i>In vivo</i>	Acuoso	Residuo de piña industrial durante 60 días redujo huevos por gramo de heces en 42.2%.
2013	Munguía et al.	<i>Lippia graveolens</i>	<i>In vivo</i>	Acuoso	Suspensión acuosa de 260 mg/kg redujo la carga de huevo en 64.9% a 19 d postratamiento.
2013	Zapata et al.	<i>Azadirachta indica</i> <i>Nicotiana tabacum</i>	<i>In vitro</i>	Oleoso / acuoso	<i>Azadirachta indica</i> a 1 mg mL ⁻¹ inhibió 80% eclosión de huevo. <i>Nicotiana tabacum</i> , a 1mg mL ⁻¹ inhibió 99% eclosión de huevo.
2013	Zhu et al.	<i>Arisaema franchetianum</i>	<i>In vitro</i>	Oleoso	99% de inhibición de eclosión de huevo a 10 mg mL ⁻¹ . CE ₅₀ 1.63 mg mL ⁻¹ . Inhibición completa de desarrollo larval a 10 mg mL ⁻¹ con CE ₅₀ =1.10 mg mL ⁻¹ . 74.1 % de inhibición de migración larval a 10 mg mL ⁻¹ .
2013	Zhu et al.	<i>Arisaema lobatum</i>	<i>In vitro</i>	Oleoso	A 7.5 mg mL ⁻¹ inhibió eclosión de huevo en 99% y CE ₅₀ =0.48 mg mL ⁻¹ . Inhibición completa de desarrollo larval a 10 mg mL ⁻¹ y CE ₅₀ =0.73 mg mL ⁻¹ . Inhibió 95.6% la migración larval a 10 mg mL ⁻¹ .

2014	Acharya et al.	<i>Rhus aromatica</i>	<i>In vitro</i>	Metanol /DMSO	100% de inhibición de eclosión de huevos a 50 mg mL ⁻¹ de extracto liofilizado. En migración larval obtuvo 67.6% a concentración de 50 mg mL ⁻¹ . ED ₅₀ =10.4 mg mL ⁻¹ .
2014	Acharya et al.	<i>Ericameria nauseosa</i>	<i>In vitro</i>	Metanol / DMSO	Presentó 100% de inhibición de eclosión de huevos a 50 mg mL ⁻¹ de extracto liofilizado. En migración larval obtuvo 75.2% a 50 mg mL ⁻¹ . ED ₅₀ =4.0mg mL ⁻¹ .
2014	Acharya et al.	<i>Perideridia gairdneri</i>	<i>In vitro</i>	Metanol / DMSO	Presentó 100% de inhibición de eclosión de huevos a 50 mg/ml de extracto liofilizado.
2014	Pérez-Pérez et al.	<i>Gliciridia sepium</i>	<i>In vitro</i>	Metanol	A 125, 250 y 500 µg mL ⁻¹ obtuvo 27.7, 46.2 y 49.7% de eficacia en inhibición de eclosión de huevos.
2015	Alemán et al.	<i>Citrus sinensis</i>	<i>In vitro</i>	Tween 80/ DMSO/agua	A 6.25 mg mL ⁻¹ inhibió eclosión en 97.5%. A 1.56 mg mL ⁻¹ inhibió 81.6% de desarrollo larval.
2015	Alemán et al.	<i>Melaleuca quinquenervia</i>	<i>In vitro</i>	Tween 80/ DMSO/agua	A 6.25 mg mL ⁻¹ inhibió eclosión en 95.3%. A 1.56 mg mL ⁻¹ inhibió 97.6% de desarrollo larval.

2015	Irum et al.	<i>Artemisia maritima</i>	<i>In vitro</i>	Metanol	En 25 mg mL ⁻¹ obtuvo 100% de inhibición de motilidad en L ₃ y adultos de <i>Hc</i> . A la 4ta. semana post tratamiento tuvo reducción de 86.4% de huevos en heces (FECR) con 50 mg/kg.
2015	Irum et al.	<i>Artemisia vestita</i>	<i>In vitro</i>	Metanol	En 25 mg mL ⁻¹ obtuvo 75% de inhibición de motilidad en L ₃ y 100% de inhibición de motilidad en adultos de <i>Hc</i> .
2015	Irum et al.	<i>Artemisia maritima</i>	<i>In vivo</i>	Metanol	En 50 mg/ Kg la reducción de huevos de <i>H. contortus</i> en heces (FECR) fue de 82.2% en la cuarta semana postratamiento.
2015	Irum et al.	<i>Artemisia vestita</i>	<i>In vivo</i>	Metanol	En 50 mg/ Kg la reducción de huevos en heces (FECR) fue de 86.36% en la cuarta semana postratamiento.
2016	Belemlilga et al.	<i>Saba senegalensis</i>	<i>In vitro</i>	Acuoso	A 15 mg mL ⁻¹ obtuvo una Inhibición de eclosión de 93.63%.

2016	Espinosa-Moreno et al.	<i>Momordica charantia</i>	<i>In vitro</i>	Acuoso	A 20 mg mL ⁻¹ de fruto de <i>M. charantia</i> , se presentó 68% de mortalidad en L ₃ desvainadas de <i>Hc</i> , a las 72 h. A 20 mg mL ⁻¹ de hojas de <i>M. charantia</i> , se presentó 53.83% de mortalidad en L ₃ desvainadas de <i>Hc</i> , a las 72 h.
2016	Espinosa-Moreno et al.	<i>Cydista aequinoctialis</i> <i>Miers.</i> <i>Bignoniaceae</i>	<i>In vitro</i>	Acuoso	A 20 mg mL ⁻¹ de <i>C. aequinoctialis</i> , se obtuvo 39.57% de mortalidad en L ₃ desvainadas de <i>Hc</i> , a las 72 h.
2016	Espinosa-Moreno et al.	<i>Heliotropium indicum</i> L. <i>Boraginaceae</i>	<i>In vitro</i>	Acuoso	A 20 mg mL ⁻¹ de <i>H. indicum</i> se obtuvo 19.75% de mortalidad en L ₃ desvainadas de <i>Hc</i> , a las 72 h.
2017	Luck et al.	<i>Pluchea sericea</i> <i>Artemisia tridentata</i>	<i>In vitro</i>	Acuoso	CL ₅₀ = 23.21 mg mL ⁻¹ para inhibición de eclosión y CL ₅₀ = 23.26 mg mL ⁻¹ respectivamente y CL ₅₀ =20.36 mg mL ⁻¹ y 27.18 mg mL ⁻¹ , para mortalidad larval, respectivamente.

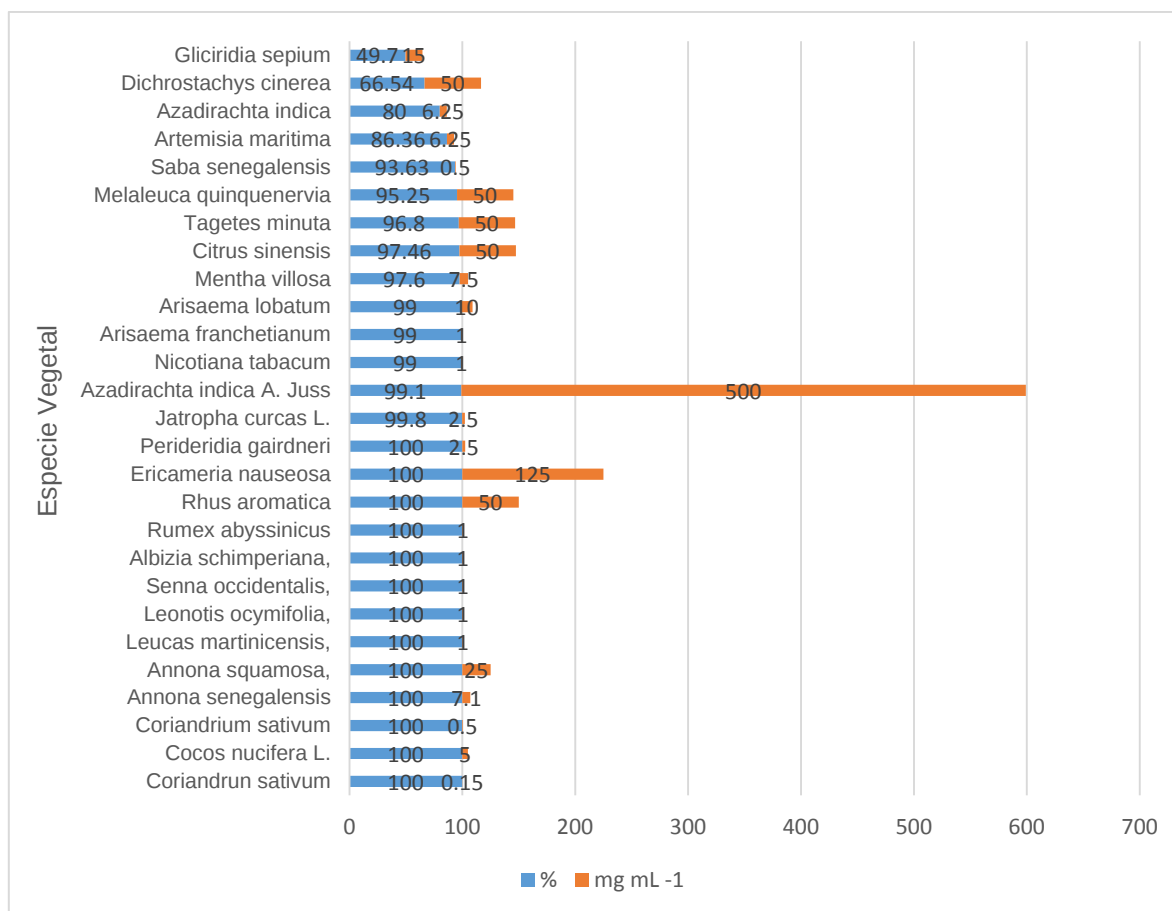


Figura 3. Porcentaje de inhibición de eclosión de huevos a diferentes concentraciones de extractos vegetales (mg mL⁻¹).

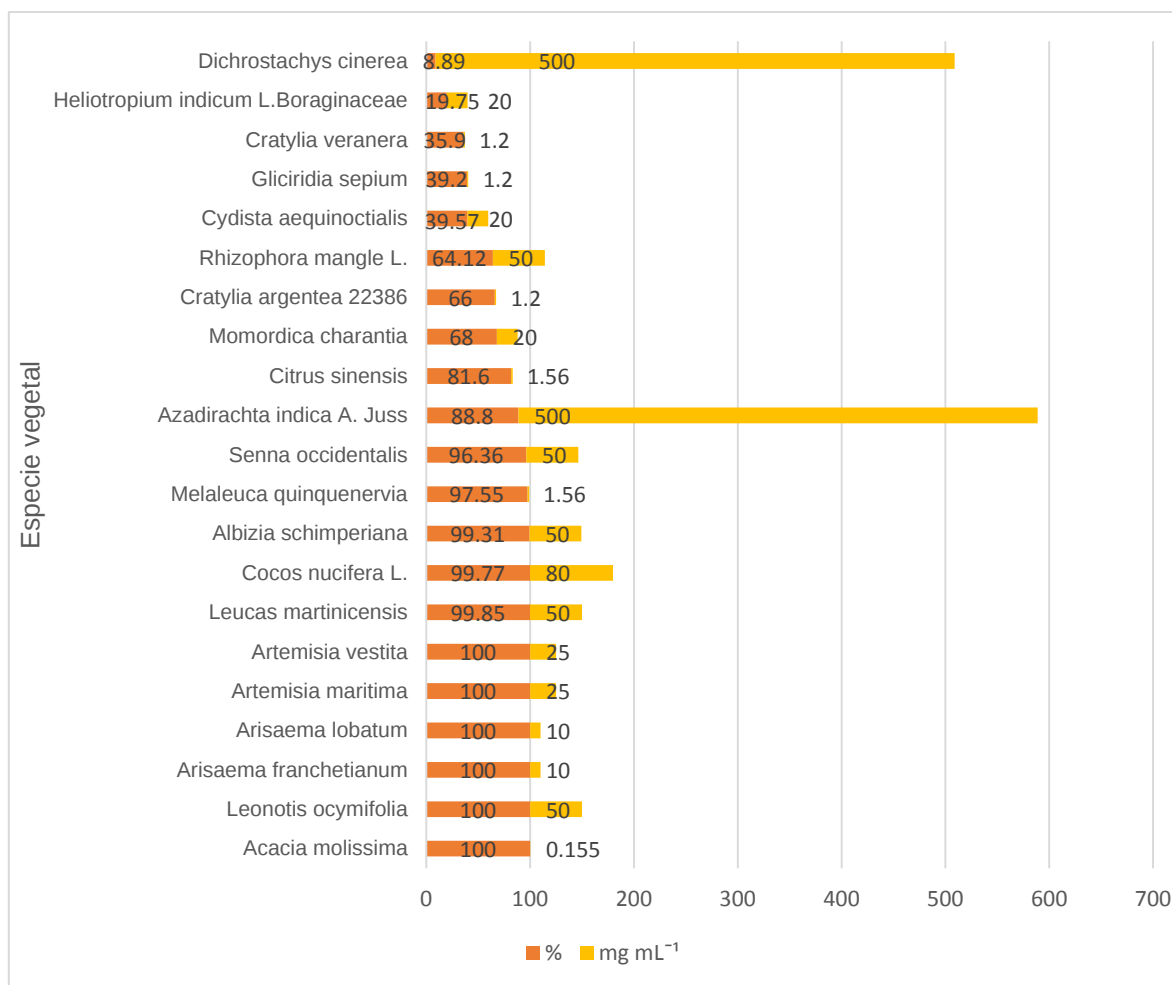


Figura 4. Porcentaje de mortalidad de L₃ y extracto de planta en mg mL⁻¹

4.10. CONCLUSIONES

Dada la resistencia adquirida de *Haemonchus contortus* contra antihelmínticos convencionales a través del tiempo, se destaca la importancia del conocimiento sobre compuestos bioactivos de plantas que se consideran alternativas para el control de nematodos gastroentéricos en diferentes regiones climáticas del mundo. Los estudios sobre actividad biológica de estos compuestos han generado información valiosa acerca de métodos para preparar extractos, la estructura química de sus componentes y la posibilidad de aislar los compuestos más efectivos, además de indicar sus modos de acción y posibles usos terapéuticos. Esas plantas producen compuestos orgánicos fundamentalmente de los

siguientes grupos: aceites esenciales, ácidos orgánicos, alcaloides, carotenos, fenoles, fitoesteroles, flavonoides, glucósidos, lignanos, mucílagos, pectinas, polisacáridos, quinonas, saponinas, taninos y terpenos. Autores de bioensayos *in vitro* recomiendan validar sus resultados realizando estudios *in vivo*. Aunque el uso de extractos de plantas como fitomedicamentos es cada vez más popular como alternativa al uso de fármacos de una sola molécula sintética, el conocimiento exacto de su estructura sigue siendo justificado.

V. CONCLUSIONES GENERALES

Los productores de bovinos, ovinos y caprinos deben recibir información que les permita reconocer el valor de esta vegetación como una fuente de forraje con alto valor nutricional y como plantas que puede servir para el control de algunos tipos de parásitos de estos rumiantes.

VI. LITERATURA CITADA.

- Abdelmolmoteleb, A., Valdez-Salas, B., Carrillo-Beltrán, M., Durán-Hernández, D., González-Mendoza, D. 2016. Green Synthesis of Silver Nanoparticles using *Pluchea sericea* a native plant from Baja California, México and their potential application as Antimicrobials. Iranian Journal of Science and technology, Transactions A: Science. 40:1-7.
- Abreu, G. y Cuéllar, O. A. 2008. Estrategias en la selección de las plantas medicinales a investigar. Revista Cubana de Plantas Medicinales. 13:3.
- Acharya, J., Hildreth, M., Reese, N. R. 2014. *In vitro* screening of forty Medicinal plant extracts from the United State Northern Great Plains for anthelmintic activity against *Haemonchus contortus*. Veterinary Parasitology. 201:75-81.
- Ail-Catzim, C. E., García-López, A. M., Troncoso-Rojas, R., González-Rodríguez, R. E., Sánchez-Segura, Y. 2015. Efecto insecticida y repelente de extractos de *Pluchea sericea* (Nutt.) sobre adultos de *Bemisia tabaci* (Genn.). Revista Chapingo. Serie Horticultura. 21:33-41.
- Adamu, M., Oshadu, O. D., Ogbaje, C.I. 2010. Anthelmintic efficacy of Aqueous Extract of *Acanthus montanus* Leaf against Strongylid Nematodes Of small ruminants. African Journal of Traditional Complement Alternative Medicines. 7:279-285.
- Ademola, I. O., Eloff, J. N. 2009. *In vitro* anthelmintic activity *Combretum molle* of (R. Br. Ex G. Don) (*Combretaceae*) against *Haemonchus contortus* Ova and larvae. Veterinary Parasitology. 169:198-203.

- Ademola, I. O., Eloff, J. N. 2011. Anthelmintic activity of acetone extract and fractions of *Vernonia amygdalina* against *Haemonchus contortus* eggs and larvae. Tropical Animal Health Production. 43:521–527.
- Agourram, A., Ghirardello, D., Ransiou, K., Zeppa, G., Belviso, S., Romane, A., Oufdou, K. y Giordano, M. 2013. Phenolic content, Antioxidant potential, and Antimicrobial activities of fruit and vegetable by-product extracts. International Journal of Foods Properties. 16:1092-1104.
- Aguilar, A. J., Cámara, R., Torres, F. J. F., Sandoval, C. 2011. El control de los nematodos gastrointestinales en caprinos. ¿Dónde estamos? Bioagrociencias. 4:10-16.
- Aguilar-Caballero, A. J.; Torres-Acosta, J. F. J., Cámara-Sarmiento, R.; Hoste, H.; Sandoval-Castro, C. A. 2008. Inmunidad contra los nematodos gastrointestinales: La historia caprina. Tropical and subtropical Agroecosystems. 9:73-82.
- Aguilar, J., Jaén, J., Vargas, A; Jiménez, P., Vega, I., Herrera, J., Borbón, H., Soto, R. 2012. Extracción y evaluación de taninos condensados a partir de la corteza de 11 especies maderables de Costa Rica. Tecnología en Marcha. 25:5-22.
- Akkari, H., B'chir, F. B., Hajaji, S., Rekik, M., Sebai, E., Hamza, H., Darghouth, M. A., Gharbi, M. 2016. Potential anthelmintic effect of *Capparis spinosa* (Capparidaceae) as related to its polyphenolic content and antioxidant activity. Veterinární Medicina. 6:308-316.
- Akkari, H., Hajaji, S., B'chir, F., Rekik, M., Gharbi, M. 2016. (2) Correlation of polyphenolic content with radical-scavenging capacity and anthelmintic effects of *Rubus ulmifolius* (Rosaceae) against *Haemonchus contortus*. Veterinary Parasitology. 221:46-53.
- Akkari, H., Jebali, J., Gharbi, M., Mhadhbi, M., Awadi, Darghouth, M. A. 2013. Epidemiological study sympatric *Haemonchus* species and genetic characterization of *Haemonchus contortus* in domestic ruminants in Tunisia. Veterinary Parasitology. 193:118-125.

- Akkari, H., Rtibi, K., B'chir, F., Rekik, M., Darghouth, M. A., Gharbi, M. 2014. *In vitro* evidence that the pastoral *Artemisia campestris* species exerts an anthelmintic effect on *Haemonchus contortus* from sheep. Veterinary Research Communications. 38:249-255.
- Alawa, C. B., Adamu, A. M., Gefu, J. O., Ajanusic, O. J., Abdu, P. A., Chiezey, N. P., Alawa, J. N.; Bowman D. D. 2003. *In vitro* screening of two Nigerian medicinal plants (*Vernonia amygdalina* and *Annona senegalensis*) for anthelmintic activity. Veterinary Parasitology. 113:73-81.
- Alba-Hurtado, F. y Muñoz-Guzmán, M. 2013. Immune Responses Associated with Resistance to Haemonchosis in Sheep. BioMedical Research Int. ID 162158, 11. Article ID 162158, pag.11.
- Alemán, Y., Sánchez, L. M., Pérez, T., Rodríguez, Y., Olivares, J. L., Rodríguez, J. G. 2011. Actividad larvica de extractos de *Rhizophora mangle* L. contra strongílidos gastrointestinales de ovinos. Revista Salud Animal. 33:111-115.
- Alemán, Y. A., Domingues, L. F., Pérez, O. P., Rabelo, M. D., López, E. R.; Sousa Chagas, A. C. 2015. Anthelmintic activity *in vitro* of *Citrus sinensis* and *Melaleuca quinquenervia* essential oil from Cuba on *Haemonchus contortus*. Industrial Crops and Products. 76:647-652.
- Álvarez, V., Hernández, Jorge, Wing-Ching, R. 2007. Eficacia de Aserines para inhibir el desarrollo *in vitro* de larvas de parásitos gastrointestinales de ovinos. Agronomía Costarricense. 31:71-75.
- Alvis, A., Arrazola, G., Martínez, W. 2012. Evaluación de la actividad y el potencial antioxidante de extractos Hidro-Alcohólicos de Cúrcuma (*Cúrcuma longa*). Información Tecnológica. 23:11-18.
- Andre, W. P. P., Ribeiro, W. L. C., Cavalcante, G. S., Dos Santos, J. M. L., Macedo, I. T. F., De Paula, H. C. B., De Freitas, R. M., De Moraes, S. M., De Melo, J. V., Bevilaqua, C. M. L. 2016. Comparative efficacy and toxic effects of carvacryl acetate and carvacrol on sheep gastrointestinal nematodes and mice. Veterinary Parasitology. 218:52-58.

- Angulo-Cubillán, F., García-Coiradas, L., Montserrat-Cuquerella, C. y Alunda, J. 2007. *Haemonchus contortus* Sheep Relationship: A Review. Revista Científica, FCV-LUZ 6:577-587.
- Anziani, O.S., Fiel, C.A. 2015. Resistencia a los antihelmínticos en nematodos que parasitan a los rumiantes en Argentina. Revista de Investigaciones Agropecuarias. 41:34-46.
- Arece, J., Roche, Y., López, Y. y Molina, M. 2012. *In vitro* effect of the aqueous extract of *Dichrostachys cinerea* (L) Wight and Arn. On the development of exogenous stages of gastrointestinal strongyles in sheep. Pastos y Forrajes. 35:301-310.
- Assis, L. M., Leal, C. M., Morais, S. M., Souza, J. A. L. 2003. Ovicidal and larvicidal activity *In vitro* of *Spieled anthelia* Linn. Extract on *Haemonchus contortus*. Veterinary Parasitology. 117:43-49.
- Ávalos-García, A., Pérez-Urria, E. 2009. Metabolismo Secundario de Plantas. Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal. 2: 119-145.
- Bachaya, H., Iqbal, Z., Khan, M., Sindhu, Z., Jabbar, A. 2009. Anthelmintic activity of *Ziziphus nummularia* (bark) and *Acacia nilotica* (fruit) against Trichostrongylid nematodes of sheep. Journal of Ethnopharmacology. 123:325-329.
- Bajpai, V. K., Majumder, R., Park, J. G. 2016. Isolation and purification of plant secondary metabolites using column-chromatographic technique. Bangladesh Journal Pharmacology. 11:844-848.
- Barrabí-Puerta, M. y Arece-García, J. 2013. Actividad antihelmíntica *in vitro* de extracto acuoso de hojas y semillas de Neem (*Azadirachta indica* A. Juss). Inhibición de la eclosión de huevos y del desarrollo larvario. Revista Salud Animal. 35:103-108.
- Barrau, E., Fabre, N., Fouraste, I., Hoste, H. 2005. Effect of bioactive compounds from sainfoin (*Onobrychis vicifolia*) on the *in vitro* larval migration of *Haemonchus contortus*: role of tannins and flavonol glycosides. Parasitology. 131:531-538.
- Basso, L.A., Pereira da Silva, L. H., Fett-Neto, A.G., De Azevedo Junior, W. F., De Souza Moreira, I., Palma, M. S., Calixto, J. B., Filho, S. A., Dos Santos, R. R. Pereira, M.

- B., Santos, D. S. 2005. The use of biodiversity as source of new chemical entities against defined molecular targets for treatment of malaria, tuberculosis, and T-cell mediated diseases. *Mem Institute Oswaldo Cruz*. 100:475-506.
- Bahuaud, D., Martínez-Ortiz de Montellano, C., Chauveau, S., Prevot, F., Torres-Acosta, F., Fouraste, I. 2006. Effect of four tanniferous plant extracto n the *in vitro* exsheatment of third stage larvae of parasite nematode. *Parasitology*. 132:545-554.
- Belemlilga, M. B., Traoré, A., Quédraogo, S., Kaboré, A.; Tamboura, H. H.; Gissou, I. P. 2016. Anthelmintic activity of *Saga senegalensis* (A.DC.) Pichon (Apocynaceae) extract against adult worms and eggs of *Haemonchus contortus*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 6:945-949.
- Besier, R.B. 2012. Refugia-based strategies for sustainable worm control: Factors affecting the acceptability to sheep and goats oweners. *Veterinary Parasitology*. 186:2-9.
- Bizimenyera, E. S., Githiori J. B., Eloff, J. N., Swan, G. E. 2006. *In vitro* activity of *Peltophorum africanum* Sond. (*Fabaceae*) extracts on the egg hatching and larval development of the parasitic nematode *Trichostrongylus colubriformis*. *Veterinary Parasitology*. 142:336-343.
- Boonstra, B., Rathbone, D. A., Bruce, N. C. 2001. Engineering novel biocatalytic routes for production of semisynthetic opiate drugs. *Biomolecular Engineering*. 18:41-47.
- Buelvas, G. A., Patiño, J. H., Cano-Salazar, J. A. 2012. Evaluación del proceso de extracción de aceite de aguacate has (*persea americana* Mill) utilizando tratamiento enzimático. *Revista Lasallista de Investigación*. 9:138-150.
- Buendía-Jiménez, J. A., Muñoz-Guzmán, M. A., Vega-López, M. A., Cuenca-Verde, C., Martínez-Labat, J. A., Cúellar-Ordaz, J. A., Alba-Hurtado, F. 2015. Partial protection and abomasal cytokine expression in sheep experimentally infected with *Haemonchus contortus* pretreated with *Taenia hydatigena* vesicular concentrate. *Veterinary Parasitology*. 211:60-66.

- Bulman, M. Pérdidas económicas directas e indirectas por parásitos internos y externos de los animales domésticos en Argentina. Academia Nacional de Agronomía. Informe Especial. 2012. Tomo LXVI. Buenos Aires, Argentina. pág. 76-176.
- Buttle, D. J., Benhke, J. M., Bartley, Y., Elsheikha, H. M., Bartley, D. J., Garnett, M., Donnan, A. A., Jackson, F., Lowe, A., Duce, I. R. 2011. Oral dosing with papaya latex is an effective anthelmintic treatment for sheep infected with *Haemonchus contortus*. Parasites and vectors. 4:1-12.
- Cai, K. Z., Yang, X., Wang, X. L., Hao, C., Yang, A., Zhao, Y. F. 2007. Investigation on resistance of gastrointestinal nematodes in sheep and goats to anthelmintics in Ningxia, China. Chinese Veterinary Science. 37:491-495.
- Cai, K. Z., Bai J.L. 2009. Analysis of alleles resistant to benzimidazoles in *Haemonchus contortus* in sheep by PCR-RFLP. Chinese Veterinary. Science. 39:685-689.
- Calderón-Quintal, J. A.; Torres-Acosta, J. F. J., Sandoval-Castro, C. A., Alonso, M. A., Hoste, H., Aguilar-Caballero, A. 2010. Adaptación de *Haemonchus contortus* a los taninos condensados. ¿Puede ser posible? Archivos Medicina Veterinaria. 42:165-171.
- Castelán, O. A., Álvarez, A., Bernués, A., Ku, J. C., Silveira, V. 2012. Avances de Investigación en Producción Animal en Iberoamérica. Ediciones de la Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida. pág. 394.
- Castilho, C. V. V., Fanttato, R. R., Gaínza, Y. A., Bizzo, H. B., Barbi, N. S., Leitao, S. G., Chagas, A. C. 2017. *In vitro* activity of the essential oil from *Hesperozygis myrtoides* on *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* and *Haemonchus contortus*. Brazilian Journal Pharmacognosy. 27:70-76.
- Copani, G., Hall, J. O., Miller, J., Priolo, A., Villalba, J. J. 2013. Plants secondary compounds as complementary resources: are they always complementary? Oecología. 172:1041-1049.
- Corticelli, B., Lai, M. 1963. Ricerche sulla tecnica di coltura delle larve infestive degli strongili gastro-intestinali del bovino. Acta Medica Veterinaria, Naples. 9:347-357.

- Daryatmo, J., Hartadi, H., Orskov, E. R., Adiwimarta, K., Nurkahyo, W. 2008. *In vitro* screening of various forages for anthelmintic activity on *Haemonchus contortus* eggs. Proceedings. The 13th Animal Science Congress of the Asian-Australasian Association of Animal Production Societies (AAAP) Hanoi, Vietnam. 314-31.
- De Aquino Mesquita, M., Silva Júnior, J. B., Panassol, A. M., De Oliveira, E. F., Vasconcelos, A. L., De Paula, H. C., Bevilaqua, C. M. 2013. Anthelmintic activity of *Eucalyptus staigeriana* encapsulated oil on sheep gastrointestinal nematodes. *Parasitology Research*. 112:3161-3165.
- Debela, E., Tolera, A., Eik, L.O., Salte, R. 2012. Condensed tannins from *Sesbania sesban* and *Desmodium intortum* as a means of *Haemonchus contortus* control in goats. *Tropical Animal Health Production*. 44:1939-1944.
- Díaz-Anaya, A. M., Arias-González, H.A., García-Corredor, D. J., Pulido-Medellín, M. O. 2014. Estimación de los valores de Hematocrito y Hemoglobina en presencia de *Haemonchus* sp. en ovinos de Oicatá, Colombia. *Revista Facultad de Ciencias Veterinarias*. 55:18-24.
- Domingues, L., Gigliotti R., Feitosa, K. A., Fantatto, R. R., Rabelo, M. D., Sena Oliveira, M. C., Bechara, G. H., De Oliveira, G. P., Barioni Junior, W.; De Sousa Chagas, A. C. 2013. *In vitro* and *in vivo* evaluation of the activity of Pineapple (*Ananas comosus*) on *Haemonchus contortus* in Santa Ines sheep. *Veterinary Parasitology*. 197:263-270.
- Drudge, J. H., Szanto, J., Wyant, Z. N., Elam, G. 1964. Field studies on parasite control in sheep: Comparison of Thiabendazole, Ruelene and Phenotiazine. *American Journal of Veterinary Research*. 25:1508-1512.
- Egualé, T., Tilahun, G., Debella, A., Feleke, A., Makonnen, E. 2006. *In vitro* and *in vivo* anthelmintic activity of crude extract of *Coriandrium sativum* against *Haemonchus contortus*. *Journal of Ethnopharmacology*. 110:428-433.
- Emery, D. L., Hunt, P. W., Le Jambre, L. F. 2016. *Haemonchus contortus*: the then and now, and where from here? *International Journal for Parasitology*. 46:755-769.

- Equale, T., Tadesse, D., Giday, M. 2011. *In Vitro* Anthelmintic, activity of crude Extracts of five medicinal plants against eggs-hatching and larval development of *Haemonchus contortus*. Journal Ethnopharmacology. 137:108-113.
- Espinosa-Moreno, J., Centurión-Hidalgo, D., Vera y Cuspinera, G., Pérez-Castañeda, E., Zaragoza-Vera, C., Martínez-Martínez, S., Mendoza de Gives, P., González-Cortázar, M. 2016. Actividad antihelmíntica *In vitro* de tres especies vegetales utilizadas tradicionalmente en Tabasco, México. Polibotánica. 41:91-100.
- Fabricant, D. S. and Farnsworth, N. R. 2001. The value of plants used in traditional medicine for drug discovery. Environmental Health Perspective. 109:69-75.
- FAO. 2003. Resistencia a los antiparasitarios. Estado actual con énfasis en América Latina. pág. 36.
- Féboli, A., Laurentiz, A. C., Soares, S., Augusto, J., Anjos, L., Magalhaes, L., Filardi, R., Laurentiz, R. 2016. Ovicidal and larvicidal activity of extracts of *Opuntia ficus-indica* against gastrointestinal nematodes of naturally infected sheep. Veterinary Parasitology. 226:65-68.
- Ferreira, L. E., Benincasa, B. I., Fachin, A. L., França, S. C.; Contini, S., Chagas, A., Belebóni, R. O. 2016. Thymus vulgaris L. essential oil and its main component thymol: Anthelmintic effects against *Haemonchus contortus* from sheep. Veterinary Parasitology. 228:70-76.
- Ferreira, L. E., Castro, P. M., Chagas, A. C., Franca, S. C., Belebóni, R. O. 2013. *In vitro* anthelmintic activity of aqueous leaf extract of *Annona muricata* L. (Annonaceae) against *Haemonchus contortus* from sheep. Experimental Parasitology. 134:327-332.
- Fisher, A. D., Van Sittert, S. 2013. The efficacy of a slow-release albendazole capsule against *Haemonchus contortus* with known resistance to albendazole. Journal of the South African Veterinary Association. 84:1-5.

- Fomum, S. W., Nsahlai, I.V. 2017. *In vitro* control of parasitic nematodes of small ruminants using some plants species containing flavonoids. *Tropical Animal Health and Production*. 49:375-382.
- González, R., Córdova, C., Torres, G., Mendoza de Gives, P., Arece, J. 2011. Prevalencia de parásitos gastrointestinales en ovinos sacrificados en un rastro de Tabasco, México. *Veterinaria de México*. 42:125-135.
- González-Garduño, R., Navarro-Martínez, F., Arias-Julián, J., Gutiérrez-Cruz, S., Zaragoza Vera, M., Zaragoza Vera, C. 2013. Morphological Description of *Haemonchus contortus* and *Mecistocirrus digitatus* of Sheep and Cattle in Tabasco, México. *Avances en Ciencias Veterinarias*. 28:76-85.
- González-Garduño, R., López-Arellano, M. E., Ojeda-Robertos, N., Liébano-Hernández E., Mendoza de Gives, P. 2014. Diagnóstico *in vitro* y en campo de resistencia antihelmíntica en nematodos gastrointestinales de pequeños rumiantes. *Archivos Medicina Veterinaria*. 46:399-405.
- González, R., Cordero, J., Torres, G., Arece, J., Mendoza de Gives, P. 2010. Efecto del hipoclorito de sodio y extracto de cítricos en la reducción de la infestación con nematodos gastrointestinales resistentes a antihelmínticos en ovinos de pelo. *Revista mexicana de Ciencias Pecuarias*. 1:179-187.
- Gregory, L., Yoshihara, E., Ribeiro, B. L. M., Silva, L. K. F., Marques, E. C., Meira, E. B. S., Rossi, R. S., Sampaio, P. H., Louvandini, H., Hasegawa, M. Y. 2015. Dried, ground banana plant leave (*Mussa spp.*) for the control of *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* infections in sheep. *Parasitology Research*. 114:4545-4551.
- Grosz, D. D., Eljaki, A. A., Holler, L. D., Petersen, D. J., Holler, S. W., Hildreth, M. B. 2013. Overwintering strategies of a population of anthelmintic-resistant *Haemonchus contortus* within a sheep flock from the United States Northern Great Plain. *Veterinary Parasitology*. 196:143-152.
- Handullah, M. L., Maqbool, A., Jabbar, M. A., Abbas, F., Jan, S., Razzaq, A.; Kakar, M.E. 2015. Evaluation of commonly used Anthelmintic resistance against nematodes

- infection in different Breeds of Sheep in Balochistan. Pakistan Journal Zoology. 47:1077-1082.
- Hoste, H., Martínez-Ortíz de Montellano, C., Manolaraki, F., Brunet, S., Ojeda-Robertos, N., Fourquaux, I., Torres-Acosta, J. F. J., Sandoval-Castro, C. A. 2012. Direct and indirect of bioactive tannin- rich tropical and temperate legumes against nematode infections. Veterinary Parasitology. 186:18-27.
- Hoste, H., Torres-Acosta, J. F. J., y Aguilar-Caballero, A. J. 2008. Nutrition-parasite interaction in goats: is immunoregulation involved in the control of gastrointestinal nematodes? Parasite Immunology. 30:79-88.
- Hussain, A., Khan, M. N., Iqbal, Z., Sajid, M. S., Khan, M. K. 2011. Anthelmintic activity *Trianthema portulacastrum* L. and *Musa paradisiaca* L. against gastrointestinal nematodes of sheep. Veterinary Parasitology. 179:92-99.
- Ingale, S. L., Mulik, S. V., Suryawanshi, A. and Zadbuke, S. 2010. Nutrition-Parasite Interaction-A Review. Agricultural Research Communication Centre. 31:48-55.
- Islam, K.; Afjalus S., Asit B. S., Sanjib S., Imram M., Mustafizur R. 2015. *In-vitro* anthelmintic activity of three Bangladeshi plants against *Paramphistomum cervi* and *Haemonchus contortus*. Journal Complementary Integrative Medicine. 12:171-174.
- Irum, S., Ahmed, H., Mukhtar, M., Mushtaq, M., Mirza, B., Donskow-Lysoniewska, K., Qayyum, M., Simsek, S. 2015. Anthelmintic activity of *Artemisia vestita* Wall ex DC. and *Artemisia maritima* L. against *Haemonchus contortus* from sheep. Veterinary Parasitology. 212:451-455.
- Jackson, F., Hoste, H. 2010. *In vitro* screening of Plant resources for extra-nutritional attributes in ruminants: Nuclear and related Methodologies. Springer Science+Business. 3:25-45.
- Jaiswal, A. K., Abu-Ghannam, N. and Gupta, S. 2012. A comparative study on polyphenolic content, antibacterial activity and antioxidant capacity of different solvent extracts of Brassica oleracea vegetables. International Journal of Food Science and Technology. 47:223-231.

- Jaiswal, A. K., Rajauria, G., Abu-Ghannam, N., Gupta, S. 2011. Effects of different solvent on Polyphenolic content, antioxidant capacity and antibacterial activity of irish york cabbage. *Journal of Food Biochemistry*. 36:344-358.
- Jassbi, A. R., Zamanizadehnajari, S., Baldwin, I. T. 2010. Phytotoxic Volatiles in the Roots and Shoots of *Artemisia tridentata* as Detected by Headspace solid-phase Microextraction and Gas Chromatographic-mass Spectrometry Analysis. *Journal of Chemical Ecology*. 36:1398-1407.
- Kamaraj, C., Rahuman, A. A. 2011. Efficacy of anthelmintic properties of medicinal plant extracts against *Haemonchus contortus*. *Research in Veterinary Science*. 91:400-404.
- Kamaraj, C., Rahuman, A. A., Elango, G., Bagavan, A., Zahir, A. A. 2011. Anthelmintic activity of botanical extract against sheep gastrointestinal nematodes, *Haemonchus contortus*. *Parasitology Research*. 109:37-45.
- Kaplan, M .A. C., Gotlieb, O. R. 1990. Busca racional de principios activos en plantas. *Interciencia*. 15:26-9.
- Karlsson, L. J. E., Greef, J. C. 2012. Genetic aspects of sheeps parasitic diseases. *Veterinary Parasitology*. 189:104-112.
- Klongsiriwet, C., Quijada, J., Williams, A., Mueller-Harvey, I., Williamson, E., Hoste, H. 2015. Synergistic inhibition of *Haemonchus contortus* exsheathment by flavonoid monomers and condensed tannins. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drugs Resistance*. 5:127-134.
- Kommuru, D. S., Whitley, N. C., Miller, J. E., Mosjidis, J. A., Burke, J. M., Gujja, S., Mechineni, A., Terril, T. H. 2015. Effect of *Sericea lespedeza* meal pellets on adult female *Haemonchus contortus* in goats. *Veterinary Parasitology*. 207:170-175.
- Kotze, A. C., Cowling, K., Bagnall, N. H., Hines, B. M., Ruffel, A. P., Hunt, P. W., and Coleman, G. T. 2012. Relative level of thiabendazole resistance associated with the E198A and F200Y SNPs in larvae of a multi-drug resistance isolate of *Haemonchus contortus*. *International Journal for Parasitology Drugs drug resistance*. 2:92-97.

- Krief, S., Huffman, M. A., Sévenet, T., Hladik, C., Grellier, P., Loiseau, P. M., Wrangham, R. W. 2006. Bioactive properties of plant species ingested by chimpanzees (*Pan troglodytes schweinfurthii*) in the Kibale National Park, Uganda. *American Journal Primatology*. 68:51-71.
- Kuchai, J. A., Ahmad, F., Chishti, M. Z., Tak, H., Ahmad, J., Ahmad, S. and Rasoo, M. 2012. A study on Morphology and Morphometry of *Haemonchus contortus*. *Pakistan Journal Zoology*. 44:1737-1741.
- Kumarasingha, R., Preston, S., Tiong-Chia, Y., Lim, D., Chu-Lee, T., Palombo, E., Shaw, J., Gasser, R., Boag, P. 2016. Anthelmintic activity of selected ethno-medicinal plants extract on parasitic stages of *Haemonchus contortus*. *Parasites and Vectors*. 9:187.
- Kwa, M. S., Veenstra, J. G., Roos, M. H. 1994. Benzimidazole resistance in *Haemonchus contortus* is correlated with a conserved mutation at amino acid 200 in β -tubulin isotype 1. *Molecular Biochemistry Parasitology*. 63:299-303.
- Kwa, M. S., Veenstra, J. G., van Dijk, M., Roos, M. H. 1995. β -tubulin genes from the parasitic nematode *Haemonchus contortus* modulate drug resistance in *Caenorhabditis elegans*. *Molecular Biology*. 246:500-510.
- López-Aroche, U., Salinas-Sánchez, D.O., Mendoza de Gives, P., López-Arellano, M. E., Liébano-Hernández, E., Valladares-Cisneros, G., Arias-Ataide, D. M. y Hernández-Velázquez, V. 2008. *In vitro* nematicidal effects of medicinal plants from the Sierra de Huautla, Biosphere Reserve, Morelos, México against *Haemonchus contortus* infective larvae. *Journal of Helminthology*. 82:25-31.
- Laing, R., Kikuchi, T., Martinelli, A., Tsai, I., Beech, R., Redman, E., Holroyd, N., Bartley, D., Beasley, H., Britton, C., Curran, D., Devaney, E., Gilabert, A., Hunt, M., Jackson, F., Johnston, S., Kryukof, I., Li, K., Morrison, A., Reid, A., Sargison, N., Saunders, G., Wasmuth, D., Wolstenholme, A., Berriman, M., Gilleard, J., Cotton, J. 2013. The Genome and transcriptome of *Haemonchus contortus*, a key Model parasite for drug and vaccine discovery. *Genome Biology*. 14:88.

- Lucas, R. C., Abdalla, A. L., Q Vieira, M. E., Gomes, J. D. F., Peçanha, M. R. R. S., Lima, M. T., Moura, R., Berenchtein, B., Morsy, A. S., Soltan, Y. A. 2008. Evaluation of condensed tannin content of some native tropical tanniniferous plants from semiarid regions in Brazil. Center of Nuclear Energy in Agriculture-CENA University Sao Paulo-US. Piracicaba, Sao Paulo/Suldeste, Brazil Federal Rural University of Pernambuco- UFRPE, Recife, Pernambuco/Nordeste, Brazil.
- Luna-Palomera, C., Santamaría-Mayo, E., Berúmen-Alatorre, A.C., Gómez-Vázquez, A., Maldonado-García, N. M. 2010. Suplementación energética y proteica en el control de nematodos gastrointestinales en corderas de pelo. Revista Electrónica de Veterinaria. <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n070710.htm>.
- Luck, R., Avendaño, L., Aíl, C., Cuéllar, J., Muñóz, F., Macías, U. 2017. Actividad ovicida y larvicida de extractos acuosos de *Pluchea sericea* y *Artemisia tridentata* en *Haemonchus contortus*. Ecosistemas y Recursos Agropecuarios. Sometido a revisión 2017.
- Macedo, I. T., Bevilaqua, C. M., De Oliveira, L. M., Camurca-Vasconcelos, A. L., Morais, S. M., Machado, L. K., Ribeiro, W. L. 2012. *In vitro* activity of *Lantana camara*, *Alpinia zerumbet*, *Mentha villosa* and *Tagetes minuta* decoctions on *Haemonchus contortus* eggs and larvae. Veterinary Parasitology. 190:504-509.
- Marie-Magdeleine, C., Udino, L., Philibert, L., Bocage, B., Archimede, H. 2014. *In vitro* effects of Musa x paradisiaca extracts on four developmental stages of *Haemonchus contortus*. Research in Veterinary Science. 96:127-132.
- Martínez-Ortiz-de-Montellano, C., Vargas-Magaña, J. J., Canul-Ku, H. L., Miranda-Soberanis, R., Capetillo-Leal, C., Sandoval-Castro, C. A., Hoste, H., Torres – Acosta, J. F. J. 2010. Effect Anthelmintic effect of essential oil against goat gastrointestinal nematodes of tropical tannin-rich plant *Lysiloma latisiliquum* on adult populations of *Haemonchus contortus* in sheep. Veterinary Parasitology. 172:283-290.

- Martins, F. S., Cardoso Da Conceição, E., Bandeira, E. S., Silva, J. O. C., Ribeiro, R. M. 2014. The effects of extraction method on recovery rutin from *Calendula officinalis* L. (Asteraceae). *Pharmacognosy magazine*. 10:569-573.
- Medina, P., Guevara, F., La, O., Ojeda, N., Reyes, E. 2014. Resistencia antihelmíntica en ovinos: Una revisión de informes del Sureste de México y alternativas disponibles para el control de nematodos gastrointestinales. *Pastos y Forrajes*. 37:257-263.
- Mehlhorn, H. 2016. N, N-Diethyl-m-Toluamide (DEET). Springer-Verlag Berlin Heidelberg. (ed.), *Encyclopedia of Parasitology*. pág. 1751-1827.
- Min, B. R. and Hart, S. P. 2003. Tannins for suppression of internal parasites. *Journal of Animal Science*. 81:102-109.
- Meling, A. V., Chartier, C., Gjerde, B., Leine, N., Vatn, S., Stuen, S. 2013. Prevalence of gastrointestinal helminths, lungworms and liver fluke in sheep and goats in Norway. *Veterinary Parasitology*. 194:40-48.
- Minho, A. P., Bueno, I. C. S., Louvandini, H., Jackson, F., Gennari, S. M., Abdalla, A. L. 2008. Effect of *Acacia molissima* tannin extract on the control of gastrointestinal parasites in sheep. *Animal Feed Science and Technology*. 147:172-181.
- Mini, K. P., Venkateswaran, K. V., Gomathinayagam, S., Selvasubramanian, S., Bijargi, S. R. 2013. *In vitro* Anthelmintic Effect of Aqueous and ethanol Extract of *Aristolochia indica* against *Haemonchus contortus*. *Journal of Physiology and Pharmacology Advances*. 3:148-158.
- Molefe, N. I., Tsotetsi, A. M., Ashafa, A. O. T., Thekiso, O. M. 2012. *In vitro* anthelmintic effects of *Artemisia afra* and *Mentha longifolia* against parasitic gastro-intestinal nematodes of livestock. *Bangladesh Journal Pharmacology*. 7:157-163.
- Molina, J. M., Hernández, Y., Ruíz, A., González, J. F., Arguello, A., Ferrer, O., Forbes, A. B. 2009. Preliminary study on the use of a *Teladorsagia circumcincta* bulk milk Elisa test in dairy goats under experimental conditions. *Veterinary Parasitology*. 166:228-234.
- Mondal, H., Hossain, H., Awang, K., Saha, S., Mamun-ur-Rashid, S., Islam, M. K., Rahman, M. S., Jahan, I. A., Rahman, M. M., Shilpi, J. 2015. Anthelmintic activity

- of Ellagic Acid, a Mayor constituent of *Alternanthera sessilis* against *Haemonchus contortus*. Pakistan Veterinary. 35:58-62.
- Monteiro, M. V. B., Bevilaqua C. M. L., Morais, S.M., Machado, L. K. A., Camurca-Vasconcelos, A. L., Campello, C. C., Ribeiro, W. L. C., Mesquita M. 2011. Anthelmintic activity of *Jartropha curcas* L. seeds on *Haemonchus contortus*. Veterinary Parasitology. 182:259-263.
- Morais-Costa, F., Bastos, G. A., Soares, A. C., Costa, E. G., Vasconcelos, V. O., Oliveira, N. G., Braga, F. C., Duarte, E. R., Lima, W. S. 2016. *In vitro* and *in vivo* action of *Piptadenia viridiflora* (Kunth) Benth against *Haemonchus contortus* in sheep. Veterinary Parasitology. 223:43-49.
- Morais-Costa, F., Maia, A. C., Bastos, G. A., Ferreira, Y. R., Castro, L., Castro, F., Dos Santos, W., Robson, E. 2015. Plant of the Cerrado naturally selected by grazing sheep may have potential for inhibiting development of *Haemonchus contortus* larva. Tropical Animal Health Production. 47:1321-1328.
- Morales, G., Guillen, A. T., Pinho, A., Pino, L., Barrios, F. 2010. Clasificación por el método Famacha y su relación con el valor de hematocrito y recuento de h.p.g. de ovinos criados en condiciones de pastoreo. Zootecnia tropical. 28:545-555.
- Moreno, F. C., Gordon, I. J., Wright, A. D., Benvenuti, M. A., Saumell S. A. 2010. Efecto antihelmíntico *in vitro* de extractos de plantas sobre larvas infectantes de nematodos gastrointestinales de rumiantes. Archivos de Medicina Veterinaria. 42:155-163.
- Muhammad, A., Ahmed, H., Iqbal, M. N, Quayyum, M. 2014. Detection of Multiple Anthelmintic Resistance of *Haemonchus contortus* and *Teladorsagia circumcincta* in Sheep and Goats of Northern Punjab, Pakistan. Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi. 21:389-395.
- Munguía-Xóchihua¹ J. A., Valenzuela-Medrano, W., Leyva-Corona, J. C., Morales-Pablos, M. I., Figueroa-Castillo, J. A. 2013. Potencial del orégano como alternativa natural para controlar *Haemonchus contortus* en ovinos de pelo. Revista Latinoamericana de Recursos Naturales. 9: 150-154.
- Musilova, L., Ridl, J., Polivkova, M., Macek, T., Uhlik, O. Effects of secondary plant metabolites on Microbial Populations: Changes in Community structure and

- Metabolic activity in contaminated Environments. International Journal of Molecular Science. 17:1-31.
- Nagy, G., Csivincsik, A., Sugar, L., Zsolnai, A. 2017. Benzimidazole resistance within red deer, roe deer and sheep populations within a joint habitat Hungary. 149:172-175.
- Nari, A. 2011. Towards sustainable parasite control practices in livestock production with emphasis in Latin America. Veterinary Parasitology. 180:2-11.
- National Research Council (NRC). 2007. Nutrient Requirements of Small Ruminants. Annual Nutrition Series. 246-250.
- Nery, P. S., Nogueira, F. A., Martins, E. R., Duarte, E. R. 2010. Effects of *Anacardium humile* leaf extracts on the development of gastrointestinal nematode larvae of sheep. Veterinary Parasitology. 171:361-364.
- Novobilsky, A., Mueller-Harvey, I., Thamsborn, S. M. 2011. Condensed Tannins act against cattle nematodes. Veterinary Parasitology. 182:213-220.
- Olimpia, A. D., Aguilera-Valle, L., Palacio, D., Salas-Romero, J., Bebert, G., González, M., Fernández, N. 2016. Acción ovicida *in vitro* del extracto hidro-alcohólico crudo de la semilla de *Pouteria sapota* (mamey colorado) contra huevos de *Haemonchus contortus*. Primer reporte. Revista Producción Animal. 28:51-54.
- Oliveira, L. M. B., Bevilaqua, C. M. I., Costa, C. T. C., Macedo, I. T. F., Barros R. S., Rodrigues, A. C. M., Camurca-Vasconcelos, A. L. F., Morais, C. M., Lima, Y. C., Vieira, L. S., Navarro, A. M. C. 2009. Anthelmintic activity of *Cocos nucifera* L. against sheep gastrointestinal nematodes. Veterinary Parasitology. 159:55-59.
- Organización Mundial de Sanidad Animal. OIE. Estatus Sanitario Oficial de los Países Miembros. Goo.gl/P7L2Ws. 2015. Disponible en <http://www.oie.int/es/bienestar-animal/el-bienestar-animal-de-un-vistazo/> Acceso 16 de marzo, 2016.
- Paolini, V., Bergeaud, J., Grisez, C., Prevot, F., Dorchies, Ph., Hoste, H. 2003. Effects of condensed tannins on goats experimentally infected with *Haemonchus contortus*. Veterinary Parasitology. 113:253-261.
- Papadopoulos, E. 2008. Anthelmintic resistance in sheep nematodes. Small Ruminants Research. 76:99-103.

- Paulino, C., Kessler, A., De Michelis, A. 2013. Compuestos bioactivos en frutas pequeñas de la Patagonia argentina: Efecto del solvente de extracción en su determinación cuantitativa. *Revista ReCitelA*. 12:10-21.
- Peña, S. D., Carmona, M. A., Valladares, V. 2013. Comparación de calidad física, contenido de fenoles y aflatoxinas en maíces híbridos y nativos. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 4:779-788.
- Pérez-Alonso, N. y Jiménez, H. 2011. Producción de metabolitos secundarios de plantas mediante el cultivo *in vitro*. *Biotecnología Vegetal*. 11:195-211.
- Pérez-Pérez, C., Hernández-Villegas, M., De La Cruz-Bulero, P., Hernández-Bolio, I., Bolio-López, G. 2014. *In Vitro* Anthelmintic Effect of Methanolic Leaf Extract of *Gliciridia sepium* against Gastrointestinal Nematodes of Sheep. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 17:105-111.
- Qadir, S., Dixit A. K., Dixit, P. 2010. Use of medicinal plants to control *Haemonchus contortus* infection in small ruminants. *Veterinary World*. 3:515-518.
- Qi, H., Wang, W. X., Dai, J. L., Zhu, L. 2015. *In vitro* anthelmintic activity of *Xanthoxylum simulans* essential oil against *Haemonchus contortus*. *Veterinary Parasitology*. 211:223-227.
- Ramünke, S., Melville, L., Rinaldi, L., Hertzberg, H., De Waal, T., Samson-Himmelstjerna, G., Cringoli, G., Mavrot, F., Skuce, P., Krücken, J., Demeler, Y. 2016. Benzimidazole resistance survey for *Haemonchus*, *Teladorsagia* and *Trichostrongylus* in three European countries using pyrosequencing including the development of new assay *Trichostrongylus*. *International Journal for Parasitology*. 6:288-370.
- Robertson, J., Russell, R., Preisler, H., Savin, N. E. 2007. Bioassays with Arthropods. Boca Raton. Florida, Estados Unidos de América. CRC Press. Florida Entomological Society. 91:510-511.
- Rodríguez, J., Arece, J., Olivares, L., Alemán, Y., Sánchez, Y. 2015. Antihelmínticos, resistencia y método Famacha. Experiencia cubana en ovinos. *Revista Salud Animal*. 37:57-63.

- Roeber, F., Jex, A. R., Gasser, R. B. 2013. Impact of gastrointestinal parasitic nematodes of sheep, and the role of advanced molecular tools for exploring epidemiology and drug resistance – an Australian perspective. *Parasites & Vectors*. 6:153.
- Saunders, G. I., Wasmuth, J. D., Beech, R., Laing, R., Hunt, M., Naghra, H., Cotton, J. A. Berriman, M., Britton, C., Gilleard, J. S. 2013. Characterization and comparative analysis of the complete *Haemonchus contortus*, β -tubulin gene family and implications for benzimidazole resistance in strongylid nematodes. *International Journal of Parasitology*. 43:465-475.
- Seesao, Y., Gay, M., Merlin, S., Viscogliosi, E., Aliouat-Denis, C. M., Audebert, C., 2016. A review of methods for nematode identification. *Journal of Microbiological identification*. En Prensa.
- Silveira, R. X., Chagas, A. C., Botura, M. B., Batatinha, M.; Katiki, L. M., Carvahlo, C. O., Bevilaqua, C., Branco, A., Machado, E., Borges, S., Almeida, M. 2012. Action of sisal (*Agave sisalana*, Perrine) extract in the *in vitro* development of sheep and goat gastrointestinal nematodes. *Experimental Parasitology*. 131:162-168.
- Singh, G., Singh, R., Verma, P.K., Singh, R., Anand, A. 2015. Anthelmintic efficacy of aqueous extract of *Butea monosperma* (Lam.) Kuntze against *Haemonchus contortus* of sheep and goats. *Journal Parasitic Disease*. 39:200-205.
- Son-de Fernex, E. V., Alonso-Díaz, M. A., Valles-de la Mora, B., Capetillo-Le Concepción M. 2012. *In vitro* anthelmintic activity of five tropical legumes on the exsheathment and motility of *Haemonchus contortus* infective larvae. *Experimental Parasitology*. 131:413-418.
- Squires, J. M., Ferreira, J. F. S., Lindsay, D. S., Zajac, A. M. 2011. Effect of artemisinin and *Artemisia* extract on *Haemonchus contortus* in gerbils (*Meriones unguiculatus*). *Veterinary Parasitology*. 175:103-108.
- Steppek, G., Behnke, D. H., Butle, D. J., Duce, I. R. 2004. Natural Plant cysteine proteinases as anthelmintics. *Trends Parasitology*. 7:322-327.
- Suchitra, S., Anbu, K. A., Rathore, D. K., Mahawar, M., Singh, B. P., Joshi, P. 2008. *Haemonchus contortus* calreticulin binds to C-reactive protein of its host, a novel survival strategy of the parasite. *Parasite Immunology*. 30:371-374.

- Sunday, O., Suleiman, M. M., Ologunja, J., Folorunsho, S. 2015. Anthelmintic activity of extracts of *Citrus aurantifolia* (Christm) fruits peles against experimental Heligmosomoides Bakeri in Mice. Journal of Advanced Scientific Research. 6:29-32.
- Taylor, M. A. 2012. Emerging parasitic diseases of seep. Veterinary Parasitology. 189:2-7.
- Tibe, O., Pernthaner, I., Sutherland, I., Lesperance, L., Hardind, D. 2012. Condensed tannins from Botswanan forage plant are effective priming agents of $\gamma\delta$ T cells in ruminants. Veterinary Immunology Immunophatology. 146:237-244.
- Toro, A., Rubilar, L., Palma, C., Pérez, R. 2014. Resistencia antihelmíntica en nematodos gastrointestinales de ovinos tratados con ivermectina y fenbendazol. Archivos de Medicina veterinaria. 46:247-252.
- Torres-Acosta, J. F. J., González-Pech, P. G., Ortiz-Ocampo, G. I., Rodríguez-Vivas, I., Tun-Garrido, J., Ventura-Cordero, J., Castañeda-Ramírez, G. S., Hernández-Bolio, G. I., Sandoval-Castro, C. A., Chan-Pérez, J. I., Ortega-Pacheco, A. 2016. Revalorizando el uso de la Selva Baja Caducifolia para la producción de rumiantes. Tropical and Subtropical Agroecosystem. 19:73-80.
- Torres, J. F., Alfonso, M. A., Hoste, H., Sandoval, C., Aguilar, A. J. 2008. Positive and negative effects in goat production arising from the intake of tannin rich forage. Tropical and Subtropical Agroecosystems. 9:83-90.
- Torres, J. F., Molento, M., Mendoza de Gives, P. 2012. Research and implementation of novel approaches for the control of nematode parasites in Latin America and the Caribbean: Is there sufficient incentive for a greater extension effort? Veterinary Parasitology. 186:132-142.
- Turi C. E., Shipley, P. R.; Murch, S. J. 2014. North American *Artemisia* species from the subgenus *Tridentatae* (Sagebrush): A phytochemical, botanical and pharmacological review. Phytochemistry. 98:9-26.
- Urdaneta-Marquez, L., Bae, S., Janukavicius, P., Beech, R., Dent, J., Prichard, R. 2014. A dyf-7 haplotype causes sensory neuron defect and is associated with macrocyclic lactone resistance worldwide in the nematode parasite *Haemonchus contortus*. International Journal Parasitology. 44:1063-1071.

- Valderrábano, J., Calvete, C., Uriarte, J. 2010. Effect of feeding bioactive forages on infection and subsequent development of *Haemonchus contortus* in lamb faeces. *Veterinary Parasitology*. 172:89-94.
- Valdéz-Hernández, G. V., Cruz-Viera, L., Comet-Rodríguez, R. 2015. Influencia de las condiciones de operación en la extracción de polifenoles a partir de hojas de *Moringa olifera* Lam. *Revista CENIC Ciencias Químicas*. 46:135-145.
- Van Den Brom, R., Moll, L., Borgsteede, F. H. M., Van Doorn, D. C. K., Lievaart-Peterson, K., Dercken, D. P., Vellema, P. 2013. Multiple anthelmintic resistance of *Haemonchus contortus*, including a case of moxidectin resistance in a Dutch sheep flock. *Veterinary Record*. 173:552.
- Van Wyk, J. A. 2001. Refugia-overlooked as perhaps the most potent factor concerning the development of anthelmintic resistance. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*. 68:55-67.
- Vargas-Magaña, J. J., Torres-Acosta, J. F. J., Aguilar-Caballero, A. J., Sandoval-Castro, C. A., Hoste, H., Chan-Pérez, J. I. 2014. Anthelmintic activity of acetone-water extract against *Haemonchus contortus* eggs: Interaction between tannins and other plant secondary compounds. *Veterinary Parasitology*. 206:322-327.
- Villalba, J. J., Provenza, F. D., Hall, J. O., Lisonbee, L. D. 2010. Selection of tannins by sheep in response to gastrointestinal nematode infection. *Journal of Animal Science*. 88:2189-2198.
- Villaseñor, J. L., Villarreal, J. A. 2006. El género *Pluchea* (Familia: *Asteraceae*. Tribu: *Plucheeae*) en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 77:59-65.
- Vinueza, C., Martín, R., García, T. 2009. Comparación de dos métodos de extracción y detección cromatográfica de ácido tenuazónico a partir de muestras de tomate. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias*. 3:272-283.
- Von Samson-Himmelstjerna, G., Blackhall, W. J., McCarthy, J. S., Skuce, P. J. 2007. Single nucleotide polymorphism (SNP) markers for benzimidazole resistance in veterinary nematodes. *Parasitology*. 134:1077–1086.

- Vuorela, P., Leinonen, M., Saikku, P., Tammela, P., Rauha, J. P., Wennberge, T., Vuorela, H. 2004. Natural Products in the Process of Finding New Drug Candidates. *Current Medicinal Chemistry*. 11:1375-1389.
- Wannberg, J., Ersmark, K., Larhed, M. 2006. Microwave-Accelerated Synthesis of Protease Inhibitors. *Top Curr Chemistry*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 266:167-198.
- Zapata, R., González, C., Mosquera, L. N., Usuga, I. Y., Polanco, D., Araque, P. 2013. Actividad antihelmíntica *in vitro* de extractos oleosos de *Azadirachta indica* y extractos acuosos de *Nicotiana tabacum* sobre nematodos gastrointestinales de cabras. *Revista Medicina Veterinaria*. 26:25-36.
- Zapata, R., Velázquez, R., Herrera, L.V., Ríos, L., Polanco, D. N. 2016. Prevalencia de nematodos gastrointestinales en sistemas de producción Ovina y Caprina bajo confinamiento, semiconfinamiento y pastoreo en Municipios de Antioquia, Colombia. *Revista Investigación Veterinaria Perú*. 27:344-354.
- Zhang, Z, Gasser, R.B., Yan, X., Yin, F., Zhao, G., Bao, M., Pan, B., Huang, W., Wang, C., Zhou, F., Zhao, J., Fang, R., Hu, M. 2016. Two benzimidazole resistance-associated SNPs in the isotype-1 β -tubulin gene predominate in *Haemonchus contortus* population from eight regions in China. *International Journal for Parasitology Drugs and drug Resistance*. 6:199-206.
- Zhao, J. S., Pu, W. B., Zhan, Z. Y., Yue, C. 2010. Anthelmintic resistance of nematodes in Trichostrongylidae to benzimidazoles. *Chinese Veterinary Science*. 5:528–531.
- Zhong, R. Z., Li, H. Y., Sun, H. X., Zhou, D. W. 2014. Effect supplementation with dietary Green tea Polyphenols on parasite resistance and acute phase protein response to *Haemonchus contortus* infection in lambs. *Veterinary Parasitology*. 205:199-207.
- Zhong, R.Z., Sun, H.X., Liu, H. W., Zhou, D. W., 2014. Effects of tannic acid on *Haemonchus contortus* larvae viability and immune responses of sheep white blood cells *in vitro*. *Parasite immunology*. 36:100-106.
- Zhu, L., Dai, J., Yang, L., Qui, J. 2013. Anthelmintic activity of *Arisaema franchetianum* and *Arisaema lobatum* essential oil against *Haemonchus contortus*. *Journal of Ethnopharmacology*. 148:311-316.

- Zhu, L., Dai, J. L., Yang, L., Qiu, J. 2013. *In vitro* ovicidal and larvicidal activity of the essential oil of *Artemisia lancea* against *Haemonchus contortus* (Strongylida). Veterinary Parasitology. 195:112-117.
- Zitka, O., Sochor, J., Rop, O., Skalickova, S., Sobrova, P., Zehnalek, J., Beklova, M., Kraska, B., Adam, V., Kizek, R. 2011. Comparison of Various Easy-to-Use Procedures for Extraction of Phenols from Apricot Fruits. Molecules. 16:2914-2936.