



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO



INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
AGROPECUARIAS Y FORESTALES

MAESTRÍA EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA

OPCIÓN TERMINAL: ÁREA PECUARIA

TESIS

**EFFECTO DE EXTRACTOS DE *Caesalpinia platyloba* SOBRE
HUEVECILLOS Y LARVAS DE *Strongyloides*
GASTROINTESTINALES DE BOVINOS DEL TRÓPICO SECO**

QUE PRESENTA

IBT OMAR GAMIÑO AVALOS

PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA

DIRECTORA DE TESIS: DOCTORA EN CIENCIAS EN
BIOTECNOLOGÍA MICROBIANA ERNESTINA GUTIÉRREZ
VÁZQUEZ

CO-DIRECTORA: DOCTORA EN CIENCIAS QUÍMICAS ROSA
ELVA NORMA DEL RÍO TORRES

MORELIA, MICHOACÁN,

DICIEMBRE 2018



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO



INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
AGROPECUARIAS Y FORESTALES

MAESTRÍA EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA

OPCIÓN TERMINAL: ÁREA PECUARIA

TESIS

**EFEECTO DE EXTRACTOS DE *Caesalpinia platyloba* SOBRE
HUEVECILLOS Y LARVAS DE *Strongyloides*
GASTROINTESTINALES DE BOVINOS DEL TRÓPICO SECO**

QUE PRESENTA

IBT OMAR GAMIÑO AVALOS

DIRECTORA:

DRA. ERNESTINA GUTIÉRREZ VÁZQUEZ

CO-DIRECTORA:

DRA. ROSA ELVA NORMA DEL RÍO TORRES

COMITÉ TUTORAL:

DR. AURELIANO JUÁREZ CARATACHEA

MC. RUY ORTIZ RODRÍGUEZ

DR. GUILLERMO SALAS RAZO

MORELIA, MICHOACÁN, MÉXICO. 2018

ÍNDICE

MARCO TEÓRICO	1
Sistemas de producción	1
Beneficios de la ganadería extensiva	1
Factores limitantes	2
Salud animal y parasitosis	2
Nematodiasis gastroentérica	3
Phylum nematoda de la orden <i>Strongylida</i>	3
Efectos en la productividad e impacto económico	5
Métodos de control	7
Efectos adversos al uso de antihelmínticos	8
Estrategias alternativas para el tratamiento	9
Sistema agroforestal	9
Productos naturales derivados del metabolismo vegetal	10
Propiedades farmacológicas de los productos naturales	10
Potencial antihelmíntico de la familia Fabaceae o Leguminosae	12
Análisis químico	12
INTRODUCCIÓN	14
JUSTIFICACIÓN	16
HIPÓTESIS	17
OBJETIVOS	17
METODOLOGÍA GENERAL	18
RESULTADOS	21
Capítulo 1. Efecto del sistema de alimentación a base de pasto nativo y forraje arbóreo sobre cargas parasitarias del ganado bovino del trópico seco	22
Capítulo 2. Efecto antihelmíntico de extractos de <i>Caesalpinia platyloba</i> en huevecillo y larva (L ₃) de <i>Strongyloides</i> gastrointestinales	39
DISCUSIÓN	58
PERSPECTIVAS	59
AGRADECIMIENTOS	59
BIBLIOGRAFÍA	60

Índice de tablas

Efecto del sistema de alimentación a base de pasto nativo y forraje arbóreo sobre cargas parasitarias del ganado bovino del trópico seco		
Tabla 1.	Prevalencia de parasitosis en el ganado bovino en el municipio de Carácuaro, Michoacán de acuerdo con la edad, UPP y sistema de alimentación	28
Tabla 2.	Prevalencia de parasitosis en el ganado bovino en el municipio de Carácuaro, Michoacán de acuerdo con la localidad y el sistema de alimentación	29
Tabla 3.	Carga parasitaria en el ganado bovino en el municipio de Carácuaro, Michoacán de acuerdo con la edad y UPP	29
Tabla 4.	Carga parasitaria en el ganado bovino en el municipio de Carácuaro, Michoacán de acuerdo con el sistema de alimentación y a la edad de los animales	30
Tabla 5.	Género y cantidad de huevecillos de nemátodos gastrointestinales identificados en ganado bovino del municipio de Carácuaro, Michoacán	30
Tabla 6.	Frecuencia de bovinos parasitados del municipio de Carácuaro, Michoacán de acuerdo con el género de nemátodos gastrointestinales identificados en las UPP y a la edad del ganado	31
Tabla 7.	Frecuencia de bovinos parasitados en el municipio de Carácuaro, Michoacán de acuerdo con el género de nemátodos gastrointestinales identificados y a la UPP	32
Tabla 8.	Frecuencia de bovinos parasitados en el municipio de Carácuaro, Michoacán de acuerdo con el género de nemátodos gastrointestinales identificados en las UPP y al sistema de alimentación del ganado	32
Efecto antihelmíntico de extractos de <i>Caesalpinia platyloba</i> en huevecillos y larvas (L₃) de <i>Strongyloides</i> gastrointestinales		
Tabla 1.	Medias de mínimos cuadrados para mortalidad e inhibición de eclosión de huevecillos de <i>Strongyloides</i> gastrointestinales post-incubación bajo extractos (40 mg ml ⁻¹) de órganos vegetales (tallo y hoja) de <i>Caesalpinia platyloba</i>	45
Tabla 2.	Medias de mínimos cuadrados para el comportamiento <i>in vitro</i> de huevecillos de <i>Strongyloides</i> gastrointestinales expuestos a diferentes concentraciones (mg ml ⁻¹) de extracto diclorometánico de <i>Caesalpinia platyloba</i>	46
Tabla 3.	Medias de mínimos cuadrados para migración de larvas (L ₃) y larvas (L ₃) no migradas de <i>Strongyloides</i> gastrointestinales por efecto de diferentes extractos (40 mg ml ⁻¹) y diferentes concentraciones de extracto diclorometánico de <i>Caesalpinia platyloba</i>	48

Índice de figuras

Efecto antihelmíntico de extractos de <i>Caesalpinia platyloba</i> en huevecillos y larvas (L₃) de <i>Strongyloides</i> gastrointestinales		
Figura 1.	Supervivencia de huevecillos a larvas (L ₁) post-incubación bajo exposición del extracto diclorometánico de <i>Caesalpinia platyloba</i>	47
Figura 2.	Supervivencia de larvas (L ₃) bajo exposición de extracto diclorometánico de <i>Caesalpinia platyloba</i>	49

RESUMEN

El objetivo de la investigación fue determinar el efecto antihelmíntico de extractos de *Caesalpinia platyloba* sobre huevecillos (Hs) y larvas de *Strongyloides* gastrointestinales de bovinos del trópico seco, en diferentes unidades de producción pecuaria (UPP) (n=20 animales/UPP) ubicadas en el municipio de Carácuaro, Michoacán, México. Se recolectaron muestras fecales (MF) de bovinos y tallos y hojas de *Caesalpinia platyloba*, las MF (150 g animal⁻¹) se sometieron a un estudio diagnóstico coprológico-parasitario, además, se realizó la prueba de inhibición en la eclosión de Hs y migración larval, la información recabada se analizó mediante la metodología de los modelos lineales generalizados y las diferencias ($\alpha=0.05$) entre tratamientos se obtuvieron a través de medias de mínimos cuadrados. Se encontró una prevalencia de parasitosis de $82.5\pm 37.9\%$ y una carga promedio parasitaria de 4025.7 ± 3635.1 Hs g⁻¹ MF (90.3% de CV), mismo que se redujó ($P<0.05$) en los animales bajo el sistema de alimentación pasto nativo-forraje arboreo vs sistema a base de pasto nativo: 2180.0 ± 279.3 y 5563.8 ± 255.0 Hs g⁻¹ MF, respectivamente. Dentro de los extractos de *Caesalpinia platyloba*, el extracto diclorometano de hoja provocó mayor mortalidad de huevesillo de *Strongyloides* gastrointestinales ($60.7\pm 2.7\%$) vs extracto diclorometano de tallo ($53.3\pm 2.7\%$). Este extracto también se destacó por su acción contra las larvas de *Strongyloides*: $92.2\pm 5.1\%$ de mortalidad. El consumo de forraje de *Caesalpinia platyloba* en bovinos bajo pastoreo (pasto nativo) es una alternativa viable para reducir la parasitosis gastrointestinal en estos animales.

Palabras clave: Nematodiasis gastroenterítica, especies arbóreas, forraje nutraceútico, extractos vegetales, parásitos *Strongyloides*

SUMMARY

The objective of the research was to determine the anthelmintic effect of extracts of *Caesalpinia platyloba* on eggs (Hs) and gastrointestinal *Strongyloides* larvae of bovines from the dry tropics, in different livestock production units (UPP) (n=20 animals/UPP) located in the municipality of Carácuaro, Michoacán, México. Faecal samples (MF) were collected from cattle and stems and leaves of *Caesalpinia platyloba*, the MF (150 g animal⁻¹) were subjected to a diagnostic study coprological-parasitic, also, the inhibition test was carried out on Hs hatching and larval migration, the information collected was analyzed using the methodology of generalized linear models and the differences ($\alpha=0.05$) between treatments were obtained through least squares means. A prevalence of parasitosis of $82.5\pm 37.9\%$ and an average parasitic load of 4025.7 ± 3635.1 Hs g⁻¹ MF (90.3% of CV), was found, same that was reduced ($P<0.05$) in the animals under the feeding system native grass-forage arboreous vs system based on native grass: 2180.0 ± 279.3 and 5563.8 ± 255.0 Hs g⁻¹ MF, respectively. Among the extracts of *Caesalpinia platyloba*, the leaf dichloromethane extract caused greater egg mortality of gastrointestinal *Strongyloides* ($60.7 \pm 2.7\%$) vs stem dichloromethane extract ($53.3 \pm 2.7\%$). This extract was also noted for its action against *Strongyloides* larvae: $92.2\pm 5.1\%$ mortality. The consumption of forage of *Caesalpinia platyloba* in bovines under grazing (native grass) is a viable alternative to reduce gastrointestinal parasitosis in these animals.

Keywords: gastroenteric nematodiasis, arboreal species, fodder nutraceuticos, vegetable extracts, parasites of *Strongyloides*.

MARCO TEORICO

Sistemas de producción

Los sistemas de producción animal, se crean, operan y producen en función de las características de su contexto, el cual, determina en gran medida la calidad y cantidad de insumos (Ortiz y Ortega, 2001), en la región de Tierra Caliente, Michoacán, México, Molina-Mercado *et al.* (2008), refieren el predominio de selva baja caducifolia, un clima tórrido cálido seco, con una temperatura media anual mayor a 22 °C y régimen de lluvias irregular con precipitaciones entre 700-900 mm³ (Challenger y Soberón, 2008).

Están conformados por componentes en compleja organización: humano [edad 46-65 años, 61,1% de los productores son analfabetos, la mano de obra es de tipo familiar], animal [vacas, vaquillas, terneras y becerros de razas: pardo suizo, cebú, híbridos y criollos], agrícola [pradera nativa bajo la categoría de ejido, pequeña propiedad y praderas nativas rentadas] y tecnológico [los productores no cuentan con técnicas y tecnologías que superen a las utilizadas para el manejo básico al que someten a su ganado: realizar vacunación, desparasitación y rotación de potreros], estos interactúan entre sí para la producción de bovinos destinados al abasto (Molina-Mercado *et al.*, 2008).

Las salidas del sistema comprenden el número de becerros destetados a la venta, donde predominó la venta de becerros dentro del estado (Michoacán, México), durante la época de estiaje con un precio que oscila de 10-14 pesos mexicanos del kg en pie, mismo que no está determinado por el lugar de origen del comprador, estos datos fueron publicados por Molina-Mercado *et al.* (2008).

Beneficios de la ganadería extensiva

La ganadería extensiva se basa en la utilización de especies ganaderas de interés zootécnico, capaces de aprovechar eficazmente los recursos naturales, requiere escaso aporte de energía fósil y promueve el aprovechamiento de pastos naturales, además de que fomenta el bienestar animal por lo que se ajusta a las demandas de calidad en productos agropecuarios, la explotación se basa en la producción no industrializada, debido que propicia vida en semi-libertad al animal, busca la seguridad alimentaria bajo los criterios de producción ecológica, el

sistema de alimentación es natural, requiere menor dependencia de productos agrícolas, los compuestos nitrogenados presentes en las deyecciones enriquecen el suelo lo cual, proporcionan alimento a las plantas, actividad que aumenta la asimilación de dióxido de carbono, esto propicia mayor eficiencia energética global (Bellido *et al.*, 2001; Roa, 2017).

Factores limitantes

A pesar de que los beneficios son bastantes, también se debe mencionar que la ganadería extensiva presenta cambios debido a aspectos técnicos, socioeconómicos y tecnológicos que interfieren en el proceso reduciendo la eficiencia y eficacia del sistema (Cruz, 2006), las condiciones climáticas como la corta estación de lluvias propicia la baja disponibilidad y calidad de forraje durante la prolongada temporada de sequía, manteniendo a los animales en forma semi-estabulada complementando con insumos adquiridos (Villa-Méndez *et al.*, 2008), además de que las condiciones climáticas y la nula tecnificación no favorece a la agricultura como opción para producir forrajes (Carrera *et al.*, 2014).

Lo mencionado anteriormente ocasiona que se incrementen las áreas dedicadas para la explotación animal, esto aumenta la deforestación de superficies, lo cual, ocasiona daño a la diversidad de especies arbóreas presentes y emisión de gases derivado del cambio de uso de suelo (Jiménez, 2007), además de que la exposición del ganado a organismos parasitarios presentes en pastos y deficiencias en el manejo sanitario del ganado (Suarez-Domínguez, 2008), son factores que predisponen a las enfermedades (FAO, 2010), mismos que repercuten negativamente en los parámetros productivos (Nájera-Garduño *et al.*, 2016).

Salud animal y parasitosis

El estado de salud de los animales depende principalmente de: las condiciones del animal, del medio en que se encuentra y de la presencia de agentes patógenos, a pesar de los adelantos tecnológicos en materia de salud animal, el ganado continúa enfermando y muriendo en todas las regiones donde se explotan. De manera global las enfermedades se clasifican en afecciones generalizadas, trastornos metabólicos, intoxicaciones e infestaciones parasitarias (Díaz, 2008; Campos, 2009).

Como anteriormente se mencionó, la exposición del ganado a organismos parasitarios presentes en pastos (Steffan *et al.*, 2012), factor que predispone al ganado a enfermarse por organismos como trematodos, cestodos, protozoarios y nematodos, mismos que pueden establecerse en pulmones y en órganos del tracto gastrointestinal del hospedero, estos recurren a la parasitosis [interacción no simbiótica] (Cruz-Reyes y Camargo-Camargo, 2001), para completar su ciclo de vida y asegurar la supervivencia y evolución de su especie (Martínez y Cordero, 2000), éstos son responsables de pérdidas económicas y productivas (Huerta y Cruz, 2016), por manifestaciones sub-clínicas que provocan decomisos de órganos en frigoríficos y bajas del potencial productivo en animales en las explotaciones ganaderas (Castro-Hermida *et al.*, 2008).

Nematodiasis gastroentérica

Específicamente la Nematodiasis gastroentérica es causada por organismos del *Phylum nematoda*, ampliamente diversificado en el reino animalia, incluye organismos de tamaño variable, triploblásticos, bilaterales y con cuerpo cilíndrico (Ferris, 2008), la presencia de nemátodos que afectan el tracto digestivo, varía de acuerdo con la localización geográfica y las condiciones climáticas en los ecosistemas ganaderos, se distribuyen ampliamente por los países tropicales y subtropicales, especialmente en aquellas regiones donde los pastos constituyen la base alimentaria de los rumiantes (Quiroz, 2002), estos organismos patógenos representan un problema de salud que impacta considerablemente a la producción ganadera, afectando a los animales de diferentes edades (Vázquez *et al.*, 2004).

Phylum nematoda de la orden *Strongylida*

Características morfológicas

Los huevecillos tienen forma ovoidal y con tamaño variado como se describe para los géneros *Trichostrongylus* sp 40 x 85 µm, *Oesophagostomum* sp 40 x 80 µm, *Haemonchus* sp 45 x 80 µm, *Bunostomum* sp 50 x 95 µm, *Chabertia* sp 50 x 90 µm, *Cooperia* sp 34 x 77 µm y *Dictyocaulus* sp 35 x 85 µm, el número de células (blastómeros) es variado de acuerdo al género, el único género que contienen una larva L₁ desarrollada es *Dictyocaulus* sp, la eclosión

requiere condiciones de 25 a 28° C de temperatura y 60 a 80% de humedad, oxigenación y luminosidad (García-Prieto *et al.*, 2014).

Las larvas muestran tamaños variantes de 10 a 20 mm y en algunos géneros puede llegar hasta rangos de 1 a 8 cm, están cubiertos con una cutícula flexible pero bastante dura de color desde blanquecino-grisáceo a rojizo-pardo por la sangre ingerida, poseen una cápsula bucal típica en forma de embudo con dos placas equipadas con una lanceta dorsal que sirve para cortar los tejidos del hospedador, además poseen sistemas como digestivo completo, nervioso, excretor y reproductor, para fines de la diferenciación las hembras son mayores que los machos (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2011).

Ciclo biológico

El ciclo biológico comprende cinco estadios para completar su ciclo de vida, los tres primeros (L₁, L₂ y L₃), son de vida libre, es decir, tienen la capacidad de vivir fuera del hospedero (fase exógena), esta comienza con la expulsión de los huevos en las heces del animal al exterior a condiciones de temperatura y humedad óptima, los huevos eclosionan entre 24 y 30 h para dar origen a larvas L₁, las que después de 2 a 3 días pasan a ser larvas del segundo estadio L₂, alimentándose de las bacterias presentes en las heces (O'Connor *et al.*, 2006).

Después de 5 a 14 días, sufren una siguiente muda para transformarse en larva tres (L₃) o estadio infestante (fase infectiva), en el desarrollo y supervivencia de ésta, las heces desempeñan el papel de “incubadoras” sobre las praderas pastoreadas, la L₃ no puede alimentarse y depende de sus reservas alimenticias para su supervivencia, cuando esas reservas se agotan, las larvas mueren o se transforman en larvas infestantes, que migran de manera vertical a la hierba a medida que las condiciones externas son favorables (Almería y Uriarte, 1999), logrando sobrevivir durante largos períodos de tiempo en el pastizal [Temperatura de 22 °C a 26 y Humedad por debajo de 85%], esta forma de migración les permite subir y establecerse en las gotas de rocío que se encuentran en los tallos y hojas de los pastos [microhábitat] que sirven de alimento a los animales, lo cual, contribuye a la relación alimentación-parasitismo para de ese modo infestar a los bovinos, a los que se le conoce como proceso de transmisión (Soca *et al.*, 2005).

Un vez que se logra el establecimiento se desarrollan los estadios cuarto y quinto (L₄ y L₅) que cumplen su ciclo dentro del hospedero (fase endógena), ésta inicia con la ingestión de la L₃, que penetran la membrana mucosa o entran en las glándulas gástricas, donde se transforman en L₄, estas dejan la mucosa y se alojan en el lumen abomasal para transformarse en larvas L₅ y después en parásitos adultos y termina con el desarrollo de los parásitos, la cópula y la producción de huevecillos (Vázquez, 2000).

Establecimiento

Una vez que el nematodo ingresa el establecimiento en el organismo hospedador se realiza de acuerdo al género, prácticamente en cualquier órgano del tracto digestivo, en el abomaso *Haemonchus* y *Trichostrongylus*, en el intestino delgado *Cooperia* y *Bunostomum* y en el intestino grueso *Oesophagostomum*, *Chabertia* y *Dictyocaulus*, considerados como los más importantes en los bovinos desde el punto de vista patológico y epidemiológico (Soca *et al.*, 2005 y Junquera, 2014), en la región del trópico seco (Olivares *et al.*, 2006; Rodríguez-Vivas *et al.*, 2011).

Hipobiosis

Cuando las condiciones climáticas y ambientales generalmente no son favorables para el desarrollo de los estados evolutivos fuera del huésped, en la cuarta larva L₄ se presenta una fase conocida como hipobiosis o desarrollo larvario tisular en letargo temporal, la cual permite que se conserve en la pared intestinal, ello favorece que el parásito no envejezca y que complete su desarrollo, cuando las condiciones sean favorables (Quiroz, 2002), para realizar la identificación de nematodos se pueden implementar técnicas utilizando marcadores moleculares (Pérez-Tris, 2009) o basándose en características morfológicas (Fernández-Figueroa *et al.*, 2015).

Los efectos en la productividad e impacto económico

Haemonchus y *Bunostomum* son hematófagos que se asocian principalmente con manifestaciones clínicas como la anemia, asociado con altas tasas fraccionales de removimiento de glóbulos rojos y albúmina, los cuales se atribuyen a la elevada pérdida entérica de proteína, en el sitio de las infestaciones; mientras que el género *Trichostrongylus*

produce una inflamación aguda de la mucosa gastrointestinal, destrucción masiva de la superficie de la mucosa, hay disminución de los niveles de albúmina sanguínea y la elevación del pH del abomaso conduce a diarrea con invasión bacteriana (Villar, 2009).

Sobre la productividad ganadera, los efectos importantes reportados constituyen las severas manifestaciones clínicas, las cuales dependen del lugar de establecimiento en el hospedador, en la relación nutrición-nematodo se pueden mencionar efectos sobre la función ruminal, la nutrición proteica, en el metabolismo animal, intestino y abomaso, donde se describen principalmente la reducción de ácidos grasos volátiles, amonio y materia seca, el intestino delgado aumenta la salida de materia orgánica del rumen, lo cual provoca incrementos de la fermentación en el ciego y el colon, alterando la relación energía-proteína, esto reduce los nutrientes absorbidos, las paredes del intestino son dañadas, además aumenta la entrada de nitrógeno y material proteico, lo cual representa una pérdida de aminoácidos disminuyendo la cantidad de proteínas necesarias para la energía (Encalada-Mena *et al.*, 2009).

El parasitismo dificulta la digestión y absorción de las proteínas, calcio y fósforo, produce la disminución de mineralización de la matriz ósea y reducción en la concentración del fósforo en el plasma, lo cual sugiere que la osteoporosis mineral, es inducida por deficiencia en la relación calcio:fósforo, esto también provoca reducción del tamaño del esqueleto, lo que determina la capacidad de crecimiento y la acumulación de músculo, al inicio de la lactancia se eleva el tiempo de permanencia de parásitos, se incrementa el número de huevecillos en la materia fecal y la fecundidad de los parásitos hembras en huéspedes se aumenta debilitamiento del mecanismo de expulsión de los parásitos, evidencia de la disminución de la inmunidad celular reflejando la relación de una hormona de la gestación la prolactina, que interfiere la repuesta del huésped en este periodo, asociada a glucocorticoides y prostaglandinas (Villar, 2009; Steffan *et al.*, 2012).

Estudios de Rodríguez-Vivas *et al.* (2017), sobre el impacto económico de los nematodos en explotaciones ganaderas del trópico de México, refieren pérdidas anuales en la producción por más de US \$445 millones de dólares en carne, US \$189 millones de dólares para leche, en Argentina, Perpere, (2015) refiere pérdidas en la ganancia de peso, en un rango de 40 a 60 kg, en promedio 87.1 kg de ganancia de peso terneros/año sin medicación, valor alcanzando en los

primeros 6 meses del año un total por más de US \$255 millones de dólares, además de los decomisos de subproductos, donde las pérdidas generadas durante el invierno que no se compensan durante el pastoreo de la primavera.

Métodos de control

Ante tal situación, se cuenta con métodos de control para minimizar el impacto de los nematodos gastrointestinales y reducir las pérdidas económicas (Dobson *et al.*, 2011), basados en la epidemiología y la dinámica poblacional de estos parásitos, entre ellos se encuentran el manejo de pasturas, la selección de animales resistentes, el control biológico y el uso de antihelmínticos (Benavides, 1991).

Desde hace muchos años, el control de la Nematodiasis gastroentérica se ha basado en el uso de antihelmínticos debido a su amplio espectro, fácil aplicación y alto grado de eficacia, (Wolstenholme *et al.*, 2004), se destacan benzimidazoles como el tiabendazol, fenbendazol y albendazol (Medina *et al.*, 2014), compuestos sintetizados a partir de la construcción de un anillo de benceno con el sustituto deseado, alteran la función y estructura de los microtúbulos en las células intestinales de los nematodos e inhiben el sistema enzimático de la fumarato reductasa, la cual es vital para la producción de energía, además, previenen la formación de la tubulina una proteína esencial para los parásitos o bloquean el metabolismo energético (Sumano y Ocampo, 2006).

Los imidazotiazoles como el levamisol (Medina *et al.*, 2014), son compuestos formados por un grupo fenil y un grupo imidazol y la forma *L* activa, mimetiza la acción de la acetilcolina ocasiona una contracción muscular generalizada y parálisis, de igual forma es capaz de inhibir la fumarato reductasa, también puede causar salida de iones de sodio (Na⁺) de membranas musculares despolarizadas produciendo parálisis espástica (Torres-Acosta *et al.*, 2003). Las lactonas macrocíclicas son compuestos orgánicos del tipo éster cíclico, se forma como producto de la condensación de un grupo alcohol con un grupo ácido carboxílico en una misma molécula, por mencionar algunas; las avermectinas [ivermectina] (Medina *et al.*, 2014), son moléculas obtenidas de la fermentación de *Streptomyces* sp poseen en su estructura química un azúcar y un aglicona lo que les confiere la propiedad macrocíclica, actúan como

agonistas, afectan la capacidad de alimentación y fecundidad además de parálisis flácida del parásito (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2017).

El desarrollo de antihelmínticos ha permitido disponer de una herramienta de control práctica y adaptable a diferentes sistemas, además de la disminución de toxicidad en los grupos químicos, lamentablemente el productor pecuario ha creado un falso sentido de seguridad, por sustituir el diagnóstico y el asesoramiento profesional, por la exclusiva utilización de drogas, lo cual ha provocado efectos adversos de los antihelmínticos (FAO, 2003).

Efectos adversos al uso de antihelmínticos

El manejo inadecuado, sobre todo al que se refiere a la parte farmacológica, ha llevado al desarrollo de resistencia antihelmíntica por parte de algunas poblaciones parasitarias, ésta se puede definir como la capacidad heredable de la población parasitaria de reducir su sensibilidad a la acción de una o más drogas, es un problema inducido por factores como la alta frecuencia de desparasitaciones, el uso indiscriminado de antiparasitarios, y la falta de rotación de principios activos, lo cual ha generado que dichas poblaciones expresen genes que en condiciones normales no expresarían, favoreciendo con esto el desarrollo de resistencia frente a los medicamentos que están destinados a su destrucción (Torres *et al.*, 2007).

Además la exposición del parásito a un solo producto químico durante tiempos prolongados, la subdosificación o uso de varios productos con intervalos de tiempo muy cortos, promueve la aparición de residualidad por fármacos antihelmínticos de uso veterinario en alimentos de origen pecuario, considerados como un factor de riesgo en la salud pública y como limitante en el desarrollo económico de cualquier país, estas razones y el avance de metodologías analíticas cada vez más sensibles, han hecho que los requisitos de sanidad e inocuidad exigidos en los alimentos sean cada vez más estrictos, para reducir oportunamente posibles riesgos de contaminación física, química y microbiológica y de esta forma cumplir con las exigencias demandadas por los consumidores (Lozano y Arias, 2008).

No solo la resistencia y residualidad son sub-problemas directos provocados por el control químico para el tratamiento de infestaciones parasitarias, de manera indirecta la farma-contaminación puede causar efectos adversos al medio ambiente, provocados por las

deyecciones directas de los animales tratados con medicamentos utilizados en veterinaria, debido a que se incorporan rápidamente a suelos, aguas subterráneas y superficiales (Aparicio-Medina *et al.*, 2011).

Estrategias alternativas para el tratamiento

La industria farmacéutica ha realizado investigaciones tendientes a descubrir nuevas moléculas, con el objetivo de encontrar estrategias eficaces y remplazar el uso de químicos sintéticos (Márquez-Lara, 2014), además de que se han propuesto alternativas para el control sostenible (Alberti, 2015), como la inmunonutrición (Basabe *et al.*, 2009), complementación proteica (Herrera *et al.*, 2010), el uso de hongos nematófagos (Sagüés *et al.*, 2011), estudios genéticos (Núñez-Domínguez *et al.*, 2016) y vacunas contra helmintos (Cruz *et al.*, 2017), manejo de pastizales y el pastoreo alternativo y mixto entre diferentes especies (Aumont, 1998), así también se ha demostrado que en regiones del trópico el sistema agroforestal, podría afectar el ciclo biológico de los parásitos, pues se ha observado la disminución de excreción de huevecillos en heces y por lo tanto podría reducir la incidencia de Nematodiasis gastroentérica (Soca, 2006).

Sistema agroforestal

En la región del trópico seco, el sistema agroforestal permite incorporar biodiversidad de especies arbóreas en diferentes estratos (Jiménez *et al.*, 2001; Navas, 2016), por lo que una vegetación más compleja y variada tiende al incremento de la productividad de la ganadería convencional de pastoreo (Montagnini y Finney, 2011; López-Vigoa *et al.*, 2017), autores como López, (2015) sugieren que estos sistemas son capaces de incrementar la producción de carne y leche a menores costos financieros.

El ganado en época de lluvias puede consumir el follaje verde, durante el estiaje el consume hojarasca (Avila *et al.*, 2007; Gutiérrez *et al.*, 2018). Además las especies arbóreas multipropósito ofrecen servicios ecosistémicos indirectos, como confort para los animales, madera para postes, cercas vivas, frutos; así como servicios ecosistémicos directos (para las personas), a través de la leña como combustible, madera para confección de herramientas de trabajo, muebles y utensilios (López, 2015), las especies arbóreas reducen las crisis de

estacionalidad de la reproducción porque el ganado tiene mejor alimentación en épocas críticas de sequía, dichas especies favorecen la lucha contra el cambio climático al tener atributos para la mitigación de gases y mayor captura de carbono que sistemas convencionales (Montagnini *et al.*, 2015).

La propiedad nutracética de las especies arbóreas multipropósito radica en los compuestos No-nutricionales, generados en plantas a través de reacciones químicas para degradar moléculas complejas y obtener compuestos simples a este proceso se le llama metabolismo, estos compuestos simples o también conocidos como metabolitos secundarios se originan en las rutas de biosíntesis a partir del ácido shikímico, ácido mevalónico y acetil coenzima A (Co A), y son sintetizados en pequeñas cantidades, de forma no generalizada, en producción restringida a un determinado género, familia, o especies de plantas, estos tienen funciones ecológicas (atrayentes de insectos polinizadores o función protectora repelentes frente a animales predadores), e intervienen en los mecanismos de defensa de las plantas frente a diferentes patógenos (Sepúlveda *et al.*, 2003; Ávalos y Pérez-Urria, 2009).

Productos naturales derivados del metabolismo vegetal

Éstos se agrupan en terpenos, mismos que a pesar de mostrar estructuras complejas, los bloques de construcción son a base de moléculas de isopreno $(C_5)_n$ se clasifican en hemiterpenos, monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, sesterterpenos, triterpenos, y tetraterpenos. Compuestos fenólicos, estos se derivan del fenol y poseen un bloque de construcción C_6C_3 . Glicósidos, su nombre hace referencia al enlace glicosídico que se forma cuando una molécula de azúcar se condensa con otra que contiene un grupo hidroxilo. Alcaloides aunque sus estructuras químicas son variadas, estos poseen un nitrógeno heterocíclico y se sintetizan a partir de aminoácidos (Dewick, 2009).

Propiedades farmacológicas de los productos naturales

Mediante las pruebas biodirigidas se han identificado las propiedades farmacológicas de los metabolitos secundarios obtenidos por extracción en especies vegetales, algunas actividades biológicas identificadas que poseen son: anti-microbiana, astringente, anti-tumoral, anti-trombótica, anti-inflamatoria (Piña-González *et al.*, 2015), a la producción ganadera le aportan

beneficios específicos, contribuyen con el manejo sanitario del ganado, mostrando beneficios sobre los factores que predisponen a las enfermedades parasitarias, por su potencial efecto antihelmíntico, las principales sustancias bioactivas de plantas son los terpenos (Medina *et al.*, 2014) y aunque su mecanismo de acción sobre los nematodos gastrointestinales no está totalmente dilucidado, la actividad antihelmíntica podría ser atribuida a la interacción metabolito-nematodo (Hoste *et al.*, 2006).

En la actualidad, se han comenzado a evaluar las potencialidades de algunos productos naturales presentes en los forrajes, las cuales, según los investigadores constituyen una excelente alternativa para disminuir los niveles de enfermedades en los animales, la gran diversidad de plantas perennes, entre ellas las leguminosas han sido señaladas con propiedades antihelmínticas por contener elevados niveles de estas sustancias, además de que contribuyen a mejorar el plano nutricional por su rol en la protección de la proteína pasante a nivel de la degradación ruminal (Soca, 2006 y Soca *et al.*, 2007).

Sin duda los compuestos fenólicos que han recibido mayor atención por su bioactividad son los taninos los cuales poseen la propiedad de afectar de forma directa afectando al parásito en sí mismo e indirecta modificando la respuesta del animal a la enfermedad, la actividad antihelmíntica es favorecida por el incremento del paso de proteínas al intestino delgado donde son absorbidas como aminoácidos, por otra parte, se observan modificaciones morfológicas y fisiológicas de los parásitos cuando los taninos alcanzan concentraciones elevadas a nivel intestinal (Otero e Hidalgo, 2004), las cumarinas interactúan con las enzimas tales como proteasas, lipasas y quitinasas las cuales tienen la función de degradar la membrana del huevecillo (Moya y Escudero, 2015).

Los efectos biológicos de las saponinas, normalmente se atribuyen a su interacción específica con las células de la membrana del huevecillo, que causa cambios en la pared celular, lo cual disminuye la tensión superficial, y por lo tanto inhibe la eclosión (Pérez-Pérez *et al.*, 2014), por último, los alcaloides actúan eficazmente paralizando o matan (según la dosis), gusanos intestinales en el ganado (Martínez y Cano, 2009).

En lo que respecta al efecto sobre larvas infectantes L₃ de nematodos de los géneros *H. placei*, *Cooperia sp* y *T. colubriformis* los resultados de las pruebas indican que los metabolitos

secundarios presentes en extractos de especies vegetales confieren la propiedad de aumentar la tasa de inhibición de la migración larval contra estas especies de nematodos (Moreno *et al.*, 2010), además el mecanismo de acción de los taninos consiste en evitar que los machos desenvainen (Torres-Acosta *et al.*, 2008).

Potencial antihelmíntico de la familia Fabaceae o Leguminosae

La familia Fabaceae o Leguminosae, presenta una distribución cosmopolita y se desarrolla en diversos tipos de climas y ecosistemas, especialmente en tierras de altitudes bajas y medias, el nombre proviene del tipo de fruto, legumbre con forma de vaina, alargada, comprimida lateralmente, que se abre por las suturas, donde las semillas se colocan en una sola hilera (Duno y Cetzal-Ix, 2016). Se han evaluado extractos de especies como *Gliricidia sepium* (Pérez-Pérez *et al.*, 2014), *Acacia farnesiana*, *Acacia holosericea*, *Acacia nilotica* (Moreno *et al.*, 2010), *Albizia schimperian*, *Lotus corniculatus* L (Egualé *et al.*, 2011), *Pithecellobium dulce* (Tavira, 2017) o *Leucaena leucocephala* (López *et al.*, 2015), las cuales, han demostrado reducir la eclosión de huevecillos y mitigar la motilidad larval en las especies de nematodos gastrointestinales de rumiantes (Avello *et al.*, 2006; Rodríguez *et al.*, 2016).

La obtención de metabolitos secundarios procedentes de extractos depende directamente de los disolventes empleados en el proceso de maceración, debido a la polaridad, de la *Caesalpinia platyloba* aún no se ha comprobado el potencial antihelmíntico pero se ha considera de interés farmacológica, además de los taninos y fenoles (Athanasiadou *et al.*, 2000; López, 2015), otros compuestos que han sido caracterizados son: diterpenfurano, ácidos grasos, escualeno y esteroides de extractos hexánicos de hoja (Pamatz, 2010), el 6 β -acetoxivouacapano en extractos con diclorometano (Magallón-Chávez, 2016) y en extractos metanólicos, aún no se han realizado estudios fitoquímicos, que describan los productos derivados del metabolismo secundario.

Análisis químico

Mediante el análisis fitoquímico de órganos vegetales, se puede analizar la composición química y con las pruebas biodirigidas se establece el potencial medicinal o industrial, (Carvajal *et al.*, 2009), haciendo uso de la resonancia magnética nuclear (RMN), método

espectral basado en las propiedades magnéticas de los núcleos de hidrógeno, siendo los efectos electrónicos los que dan lugar a los desplazamientos químicos y las constantes de acoplamiento, permiten el estudio detallado de la estructura electrónica de las moléculas (Joseph-Nathan y Díaz, 1993).

Estos métodos espectrométricos utilizan un sistema de anclado para mantener la estabilidad del campo magnético que emplea la resonancia del deuterio, por lo que es imprescindible la utilización de disolventes en forma deuterada como el cloroformo deuterado (CDCl₃), implementado por no alterar el espectro, además para estudios que requieran una determinación exacta de los valores de desplazamiento químico, es necesario utilizar una señal de referencia interna con tetrametilsilano (TMS) para muestras orgánicas (Mendoza, 2014).

Por lo anteriormente mencionado, este trabajo de investigación evalúa el efecto del sistema de pastoreo a base de pasto nativo y forraje arbóreo, sobre cargas parasitarias de bovinos. En este sentido, se pudo determinar que, *Caesalpinia platyloba* posee potencial antihelmíntico, ello demostrado in situ e in vitro, puesto que los extractos de esta planta producen mortalidad de huevecillo y larvas infectantes (L₃) de nematodos gastrointestinales pertenecientes al suborden *Strongylida*.

INTRODUCCIÓN

En Carácuaro, Michoacán, México, lugar referido como área de estudio, Molina-Mercado *et al.* (2008), consideran que la actividad ganadera se desarrolla bajo sistemas de producción extensiva, donde, los animales se mantienen libres en extensiones cerriles con alimentación basada en pastoreo, como área ganadera, ésta afronta estancamiento en su desarrollo, debido factores como: la disminución del forraje en la época de sequía (estiaje), la complementación con esquilmos agrícolas, lo cual, representa un costo adicional (López, 2015).

Además de que, en sistemas extensivos, la exposición del ganado a organismos parasitarios presentes en pastos limitan la producción de bovinos (Steffan *et al.*, 2012). Previos estudios coprológicos-parasitarios, mostraron 30.9% para la prevalencia de Nematodiasis gastroentérica (Navarro, 2002), enfermedad causada por organismos de la orden *Strongylida* (Balderas, 2005), donde la mortalidad y morbilidad está asociada a las manifestaciones clínicas que provocan (Quiroz *et al.*, 2011).

Para tratar de minimizar el impacto económico y productivo de las parasitosis, se implementa el control químico (López *et al.*, 2010), y aunque, usar medicamentos veterinarios es esencial durante la crianza de animales, problemas como resistencia antihelmíntica o residualidad en productos pecuarios, hacen de éste un método ineficiente (López *et al.*, 2008), por lo que en este tipo de explotaciones ganaderas, bajo un modelo extensivo, el sistema agroforestal es considerado una alternativa para enfrentar dichos problemas, debido a la propiedad nutraceùtica de especies arbóreas (López, 2015).

El levantamiento del inventario de las especies arbóreas en la zona de estudio por Gonzalez *et al.* (2006 y 2007), refieren a *Pithecellobium dulce*, *Leucaena leucocephala* y *Caesalpinia platyloba* como forrajeras por su contenido de compuestos nutricionales y con propiedades antihelmínticas, como lo sugiere López, (2015), la actividad biológica sobre los helmintos puede ser asociada a los productos naturales originados del metabolismo secundario de las especies arbóreas.

Éstas pertenecen a la Fabaceae o Leguminosae y el potencial antihelmíntico de *Pithecellobium dulce*, ha sido comprobado por Tavira, (2017), de *Leucaena leucocephala* por López *et al.*

(2015), y de *Caesalpinia platyloba* aún no se cuentan con estudios que avalen este efecto, pero Gómez-Hurtado *et al.* (2013), refieren interés farmacológico debido a que los metabolitos provocan actividad citotóxica, y han caracterizado al 6 β -acetoxivouacapano como compuesto mayoritario, además de que González *et al.* (2006 y 2007) y López, (2015), la consideran como excelente recurso maderable por la dureza de su madera, propiedad que puede causar la pérdida de ésta, lo cual se refleja en la dificultad para encontrar estos ejemplares actualmente.

Los resultados se presentan a continuación en formato de artículo científico

JUSTIFICACIÓN

Los nematodos son organismos de vida libre que requieren de una relación parasitaria huésped-hospedero para completar su ciclo de vida, desafortunadamente no se puede erradicar de las explotaciones ganaderas del trópico seco, donde el sistema de alimentación basado en pastos, favorece la interacción no simbiótica conocida como Nematodiasis gastroentérica, lo cual representa un serio problema para la productividad, actualmente el único método para controlar el desarrollo de parasitosis es hacer uso de antihelmínticos por la efectividad que presenta, originando en el productor, un sentido de seguridad por lo que ha sustituido el diagnóstico y asistencia técnica, haciendo uso indiscriminado de estos productos, lo que se traduce en subproblemas como resistencia antihelmíntica y residualidad en productos pecuarios, además de, descargas de químicos al ambiente, lo cual, ha provocado que este método ya no sea una alternativa rentable, esto ha inquietado a investigadores quienes *in vivo* evaluaron la posibilidad de incorporar forraje de especies arbóreas en la ingesta diaria de alimento, para reducir las cargas parasitarias de los animales, además, de que *in vitro* los extractos de especies arbóreas principalmente de la familia Fabaceae o Leguminosae, inciden un efecto antihelmíntico sobre la inhibición de la eclosión de huevecillos y reduce la motilidad larval, actividad que se atribuye a los metabolitos secundarios como terpenos, compuestos fenólicos, glicosidos y alcaloides, que poseen un mecanismo de acción ejercido por la capacidad de interactuar de manera directa con las proteínas de la membrana y cutícula que protegen al parásito, o indirecta alterando el medio, lo cual restringe el desarrollo (fase de hipobiosis) y mitiga el establecimiento larval, estos resultados han permitido que los sistemas agroforestales puedan ser propuestos como tratamiento alternativo natural de enfermedades endoparasitarias provocadas por nematodos gastrointestinales del ganado bovino en explotaciones ganaderas del trópico seco.

HIPÓTESIS

En sistemas de pastoreo a base de pasto nativo y forraje arbóreo, el incorporar a la especie arbórea *Caesalpinia platyloba*, en la ingesta diaria, podría representar una alternativa viable para reducir las cargas parasitarias de bovinos del trópico seco.

OBJETIVOS

General

Establecer el efecto de la ingesta de forraje arbóreo de *Caesalpinia platyloba* sobre la carga parasitaria de los bovinos en pastoreo.

Específicos

- ✓ Evaluar el efecto del sistema de pastoreo (SP) a base de pasto nativo (PN) y forraje arbóreo (FA), en cargas parasitarias de muestras fecales de bovinos del trópico seco.
- ✓ Evaluar el potencial antihelmíntico *in vitro* de extractos de *Caesalpinia platyloba* en huevecillos y larvas (L₃) de *Strongyloides* gastrointestinales de bovinos del trópico seco.

METODOLOGÍA GENERAL

Área de estudio: se seleccionaron cuatro unidades de producción pecuaria ubicadas en el municipio de Carácuaro, Michoacán, México [N:19°01' W: 101°07' A:538 msnm], el clima es tropical con lluvias en verano, la temperatura oscila entre 19-33 °C, la vegetación corresponde a la selva baja caducifolia, las actividades económicas principales son: la agricultura y ganadería, debido al contexto orientan la explotación en sistema extensivo bajo condiciones de pastoreo (Molina-Mercado *et al.*, 2008).

Muestras: En la Unidad de Producción Pecuaria (UPP) ubicada en el municipio de Paso de Núñez (en el mes de octubre del año 2017), se colectaron 2 muestras de material vegetal fresco con un peso de 800 g de tallos y 800 g de hojas de *Caesalpinia platyloba*, mismo que se colocó en bolsas de papel debidamente etiquetadas, la especie arbórea fue identificada y conservada con número de registro 003087 en el Herbario de la Facultad de Biología de la UMSNH, por el MC Xavier Mdrigal, profesor investigador, taxónomo de esa dependencia universitaria. Además de que se obtuvieron 150 g de muestra de heces directamente del recto de los bovinos, en bolsas de plástico numeradas y fueron colocadas en un contenedor térmico con hielo para su transporte.

Efecto del sistema de alimentación a base de pasto nativo y forraje arbóreo sobre cargas parasitarias del ganado bovino de trópico seco

Técnica de McMaster: En frascos de acrílico se colocó solución salina y 2 g de muestra fecal, se dejó reposar por 15 min, el sobrenadante se colocó en cámaras de McMaster, se utilizó el microscopio óptico a 10X para el conteo (Guibbons *et al.*, 2016).

Preparación de las muestras para prueba biológica

Extractos vegetales: 400 g de hoja y tallo frescos y 400 g de hoja y tallo previamente secados a la sombra fueron sometidos a un proceso de maceración con disolventes: hexano, diclorometano y metanol, a temperatura ambiente por dos días, se filtró y concentró en rota-

evaporador BÜCHI ® y llevados a peso constante para eliminar residuos de disolvente (Magallón-Chávez, 2016).

Huevecillos: En la Unidad de Servicios para el Diagnóstico (USAD) de la UMSNH, se realizó el lavado de 1g de heces que se disgregó con 10 ml de agua destilada, la mezcla se centrifugó a 1500-2000 rpm durante 3-5 min, y se eliminó el líquido sobrenadante, el sedimento se diluyó con solución salina para la concentración (Gómez, 2010) y el conteo se realizó como lo sugiere Ortiz, (2010) para determinar los huevecillos por mililitro de solución.

Larvas (L₃) de *Strongyloides* gastrointestinales: las larvas fueron donadas por la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia No. 1 de la Universidad Autónoma de Guerrero.

Efecto antihelmíntico de extractos de *Caesalpinia platyloba* en huevecillos y larvas (L₃) de *Strongyloides* gastrointestinales

Prueba de inhibición de la eclosión de huevecillos: La muestra de 0.1 ml que contenía 30 huevecillos fue expuesta a 0.4 ml de extracto a concentración de 40 mg ml⁻¹, esto se incubó por 48 h a 28 °C, transcurrido el tiempo se añadió una gota de yodo para detener la eclosión (Pérez-Pérez *et al.*, 2014; Puerto *et al.*, 2014). Los controles fueron: agua destilada y Fenbendazol, además de evaluar un control con DMSO.

Prueba de inhibición de la migración larval: La muestra de 0.1 ml con L₃ de *Strongyloides* fue expuesta a 0.4 ml de extracto a concentración de 40 mg ml⁻¹, esto se incubó por 2 h, transcurrido el tiempo de exposición, se agregó la muestra a una cámara donde se sometieron a la migración a través de un tamiz de 56 µm (Moreno *et al.*, 2010; Puerto *et al.*, 2014; Schapiro *et al.*, 2015) Controles: agua destilada y DMSO

Análisis estadístico

Metodología de los modelos lineales generalizados: Se codificaron todas las situaciones de análisis dentro de un mismo esquema general con modelos lineales generalizados (López-González y Ruiz-Soler, 2011).

Medias de mínimos cuadrados: Se determinaron las diferencias entre los puntos generados correspondientes valores de los datos (Caste, 2014).

Análisis químico y procesamiento de espectros

El análisis se realizó por resonancia magnética nuclear (RMN) de ^1H a 400 MHz y ^{13}C a 100 MHz, en todos los casos se utilizó como disolvente cloroformo deuterado (CDCl_3), y como referencia interna de tetrametilsilano (TMS), para el procesamiento de espectros se empleó el programa MestReNova (Pamatz, 2010).

Estudio químico

La separación de los compuestos de 10 g de extracto diclorometánico de hoja, se realizó mediante columna cromatográfica de vidrio con diámetro 2 y 4 cm, utilizando como fase estacionaria gel de sílice de malla 230-400 Merck con altura de 12 cm, y como fase móvil mezclas de hexano-acetato de etilo en polaridades de 10:0, 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5, 4:6, para eliminar impurezas se tomaron 0.6978 g de la fracción 4:6, por cromatografía en columna utilizando como fase estacionaria gel de sílice de malla 230-400 Merck, con altura de 12 cm y como fase móvil, mezclas de cloruro de metileno-acetato de etilo en polaridades de [45:5]₃ y [40:10]₁, de las fracciones que presentaron el compuesto mediante el análisis de cromatografía en placa se sometió 0.369 g a cromatografía en columna, utilizando como fase estacionaria gel de sílice de malla 230-400 Merck, con altura de 12 cm y como fase móvil mezclas de hexano-acetato de etilo [30:20] para la eliminación de grasas.

RESULTADOS

EFECTO DEL SISTEMA DE ALIMENTACIÓN A BASE DE PASTO NATIVO Y FORRAJE ARBÓREO SOBRE CARGAS PARASITARIAS DEL GANADO BOVINO DEL TRÓPICO SECO

Gamiño-Avalos¹ O, Gutiérrez-Vázquez¹ E, del Río RE², Juárez- Caratachea¹ A, Salas-Razo¹ G, Guzmán-Lara³ D y Ortiz-Rodríguez³ R

¹Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (IIAF) de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH), Km 9.5 Carretera Morelia-Zinapécuaro, Tarímbaro, Michoacán, México. CP 58880; ²Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas-UMSNH, Ciudad Universitaria, Morelia, Michoacán 58030, México; ³Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia-UMSN. Km 9.5 Carretera Morelia-Zinapécuaro. Tarímbaro, Michoacán, México. CP 58880.

RESUMEN

Derivado de los problemas que representa la nematodiasis para la producción de ganado, surge la búsqueda de alternativas para el manejo integrado de esta enfermedad. Por ello se evaluó el efecto del sistema de pastoreo (SP) a base de pasto nativo (PN) y forraje arbóreo (FA), en cargas parasitarias de muestras fecales de bovinos. Se recolectaron 80 muestras, en cuatro unidades de producción pecuaria (UPP) ubicadas en el municipio de Carácuaro, Michoacán, México. Las muestras se sometieron a un estudio coprológico-parasitario y la información recabada tanto para prevalencia (PV), como para carga parasitaria (CP), expresada como cantidad de huevecillos por g⁻¹ de materia fecal (hg⁻¹mf), se analizaron mediante la metodología de los modelos lineales generalizados (GLM) y las diferencias ($\alpha=0.05$) entre UPP se obtuvieron a través de medias de mínimos cuadrados (Lsmeans). Se identificaron siete géneros de nematodos gastrointestinales a partir de las muestras recolectadas y la mayor proporción de huevecillos de nematodos correspondieron al género *Trichostrongylus* sp ($P<0.05$). Además, se encontró que en las UPP analizadas, la PV fue de $82.5\pm 37.9\%$; hallazgo que no fue afectado ($P>0.05$) por la edad del animal (EA) ni por el SP. El promedio ($P<0.05$), para carga parasitaria fue de 4025.7 ± 3635.1 hg⁻¹mf, mayor en animales de 1 a 3 años (5599.8 ± 713.6 hg⁻¹mf), y se reduce en sistemas de pastoreo que incorporan forraje arbóreo (2180.0 ± 279.3 hg⁻¹mf). Estos resultados sugieren que, el sistema de pastoreo a base de pasto nativo más forraje arbóreo mitiga el parasitismo del ganado.

Palabras clave: parasitosis, ganadería extensiva, sistema agroforestal

ABSTRACT

Derived from the problems posed by nematodes for livestock production, the search for alternatives for the integrated management of this disease arises. Therefore, the effect of the grazing system, based on native grass and tree fodder on parasitic loads of fecal specimens of bovine animals was assessed. 80 samples were collected in four livestock production units located in the municipality of Carácuaro, Michoacán, México. The samples were submitted to a stool-parasitic study and information collected both for prevalence, and for parasitic load, expressed as quantity of eggs per g^{-1} fecal matter ($hg^{-1}mf$), they were analyzed through the methodology of the generalized linear models (GLM) and the differences ($\alpha= 0.05$) among livestock production units, were obtained through means of least squares (Lsmeans). Seven genera of gastrointestinal nematodes were identified from the collected samples and the highest proportion of nematode eggs corresponded to the genus *Trichostrongylus* sp ($P < 0.05$). In addition, it was found that in the livestock production units analyzed, the prevalence was $82.5 \pm 37.9\%$; finding that was not affected ($P > 0.05$) by the age of the animal or by the grazing system. The average ($P < 0.05$), for parasitic load was 4025.7 ± 3635.1 $hg^{-1}mf$, higher value in animals from 1 to 3 years (5599.8 ± 713.6 $hg^{-1}mf$), and it is reduced in grazing systems under native pasture more arbor fodder (2180.0 ± 279.3 $hg^{-1}mf$). These results suggest that the grazing system based on native grass more tree fodder mitigates the parasitism of livestock.

Key words: parasitosis, extensive cattle ranching, agroforestry system

Introducción

La región del trópico seco mexicano, presenta el potencial para mantener los hatos de cría bovina del país (González *et al.*, 2015), que constituyen una respuesta a la necesidad de producir carne y leche a bajo costo, (Molina-Mercado *et al.*, 2008), lo cual, orienta a la ganadería a una producción extensiva (Palma, 2014), donde la alimentación se basa, principalmente en el pastoreo y en la actualidad se enfrenta a problemas de escasas de forraje disponible para el ganado principalmente durante la época de estiaje (Mejía, 2002).

Aunado a la escasas de forraje en este sistema, se presenta la proliferación de endoparásitos (Soca *et al.*, 2005), debido a que en los pastos se albergan larvas infestantes de nematodos, las cuales son ingeridas con el forraje (Esquivel, 2015), causando nematodiasis gastrointestinal (Angulo-Cubillán, 2005), lo cual provocan pérdidas productivas, que se sitúan en un rango de 40 a 60 kg por animal parasitado, debido a las manifestaciones clínicas que provoca al animal (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2017).

En estas regiones se sabe que los productores implementan como tratamiento para esta enfermedad, el uso de antihelmínticos (Medina *et al.*, 2014), los cuales, a pesar de contar con características como fácil acceso y aplicación, alto grado de eficacia y amplio espectro (López *et al.*, 2010), a pesar de esto aún se reportan altos valores de prevalencia de esta enfermedad (Olivares *et al.*, 2006), principalmente en la temporada de lluvias (Soca *et al.*, 2005), concentra la mayor carga parasitaria en animales jóvenes, debido a lo inmaduro de su sistema inmunológico (Benavides y Romero, 2008), además de que se ha identificado, que los géneros de nematodos que provocan la patogenicidad parasitaria pertenecen al orden *Strongyloides* (Olivares *et al.*, 2006).

Lo anterior sugiere problemas de resistencia de los parásitos gastrointestinales a la acción de una o más drogas (Encalada-Mena *et al.*, 2008), inducida por alteraciones en la dosificación (Torres *et al.*, 2007), por utilizar productos con intervalos de tiempo cortos que no permiten la asimilación del ingrediente activo por parte del bovino, lo que provoca residualidad de fármacos de uso veterinario para el control de helmintos en productos alimenticios de origen pecuario (Román, 2007), estos sub-problemas constituyen un obstáculo importante para el control de los endoparásitos (Márquez *et al.*, 2008).

Derivado de lo anterior surge la necesidad de rediseñar sistemas de control, buscando alternativas rentables, eficientes y sostenibles, por lo tanto, las especies arbóreas como recursos forrajeros incluidos en la ingesta diaria de alimento, pueden favorecer la reducción de las cargas parasitarias, al promover el desarrollo de una fauna edáfica (coleópteros coprófagos), estos descomponen la materia fecal de los bovinos, lo cual, contribuye a la disminución del potencial parasitario de las excretas (Soca *et al.*, 2007), debido a que se comportan como alimentos nutracéticos (Pérez, 2006), por su alto contenido de metabolitos secundarios, procedentes de las rutas metabólicas de las plantas (Ávalos y Pérez-Urria, 2009). Por lo que la presente investigación tiene como objetivo evaluar el efecto del sistema de pastoreo sobre la carga parasitaria y prevalencia de Nematodiasis gastroentérica de bovinos del trópico seco

Materiales y Métodos

Localización del área de estudio

El estudio se desarrolló en cuatro unidades de producción pecuaria localizadas en el trópico seco de Michoacán, México. UPP1: Zacapungamio (N: 18° 96', W: 101° 07', A: 698 msnm), UPP2: Cagüirica 1 (N: 19° 40', W: 101° 13', A: 1893 msnm), UPP3: Cagüirica 2 (N: 19° 40', W: 101° 13', A: 1893 msnm) y UPP4: Puerto de Amoles (N: 19° 05', W: 101° 01', A: 1124 msnm). Predomina un clima tropical y seco estepario con lluvias en verano y precipitación pluvial anual de 975.5 mm³ y temperaturas que oscilan de 21 a 37 °C (INEGI, 2017).

Manejo de animales y tamaño muestral

Se utilizaron bovinos de diferentes edades; mismos que no habían sido desparasitados y se concentraban de diferentes agostaderos bajo diferentes sistemas de alimentación (pastos nativos y pastos nativos más especies arbóreas forrajeras). Se colectaron muestras fecales de 20 animales/UPP, mediante el cálculo del tamaño de muestra, a través de la fórmula para población conocida (Olivares *et al.*, 2006), como se desglosa a continuación:

Fórmula

$$N=[Z^2*(p*q)/E^2]$$

Donde:

N= tamaño de la muestra
Z= nivel de confianza 95% (3.84)
p= prevalencia reportada (30.9%)
q= 1-p (69.1%)
E= error máximo tolerable 5% (0.0025)
El N calculado fue de 20 animales/UPP

Toma de muestra

Una vez identificado e inmovilizado cada animal, de los seleccionados, se colectó una muestra fecal (150 g) directamente del recto de los bovinos. Las muestras se guardaron en bolsas de plástico etiquetadas, fueron colocadas en un contenedor térmico con hielo para su transporte al laboratorio de la Unidad de Servicios Auxiliares para el Diagnóstico de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (USAD-FMVZ), donde se realizó el análisis coprológico-parasitario, entre las coordenadas N: 19° 48', W: 101° 11' y A: 860 msnm. Posee un clima templado con temperatura media de 18.4°C y una precipitación media anual de 777 mm³ (INEGI, 2010).

Análisis coprológico-parasitario

Mediante la técnica de flotación de McMaster. En los frascos de acrílico se colocó solución salina (SSNaCl), donde se adicionó 2 g de muestras fecales, la cual se dejó reposar por 15 a 20 minutos, se recuperó el sobrenadante, que se colocó en las cámaras de McMaster y se contaron los huevos de nematodos con un microscopio óptico a 10X.

Cálculo de la Prevalencia: La prevalencia se consideró como el número de casos existentes de la enfermedad sobre el número de sujetos estudiados (Quijada *et al.*, 2006), como se muestra a continuación:

Fórmula

$$PV = (N^{\circ} \text{ de animales con HPG} \geq 50 / N^{\circ} \text{ total de animales examinados}) * 100$$

Donde:

NC: el nivel de confianza 95%
N: el tamaño de la población
e: el número de individuos enfermos en la población (o en la muestra)
m: el tamaño de la muestra
Se: la sensibilidad de la prueba diagnóstica
Es: la especificidad de la prueba diagnóstica

Determinación de la carga parasitaria

La determinación de la carga parasitaria, se realizó mediante la técnica de conteo de huevecillos de McMaster de la guía RVC/FAO de parasitología veterinaria por Guibbons *et al.* (2016), la cual sugiere el conteo del número de huevecillos dentro del espacio contable de cada cámara, ignorando aquellos fuera de los cuadros, se multiplicó el total por 100, de esta forma se calculó la cantidad de huevecillos por gramo de materia fecal ($hg^{-1}mf$).

Identificación de los géneros de nematodos

Para determinar el género de los nematodos presentes en las muestras se utilizó un microscopio montado con micrómetro de platina y objetivo calibrado a 40X para la medición en micras y determinar el género de nemátodos (Martínez y Mayorga, 2010).

Análisis estadístico

Para efectos del análisis estadístico, se consideró para la prevalencia un análisis binomial (0, para animales no parasitados y 1, para animales parasitados) (Martínez y Marí, 2010). Así, la información recabada, tanto para la prevalencia como para la carga parasitaria (cantidad de huevecillos muestra⁻¹), se analizó mediante la metodología de los modelos lineales generalizados (GLM) bajo el siguiente modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + UPP_i + SA_j + Edad_k + UPP(SA)_{ij} + Edad(UPP)_{ki} + Edad(SA)_{kj} + e_{ijkl}$$

Donde:

Y_{ijkl} = Prevalencia, carga parasitaria (número de huevecillos g^{-1} de materia fecal)

μ = media general

UPP_i = Unidad de producción como efecto fijo con i -ésima = 1, 2, 3, y 4 localización geográfica de la UPP.

SA_j = Sistema de alimentación como efecto fijo con j -ésimo = 1 (pasto nativo) y 2 (pasto nativo más forraje arbóreo),

$Edad_k$ = Edad del animal como efecto fijo con k -ésima = 1 (rango de 1-3 años) y 2 (rango de 4-6 años).

UPP (SA)_{ij}= Efecto fijo de la i-ésima Unidad de producción anidado en el j-ésimo sistema de alimentación

Edad (UPP)_{ki}= Efecto fijo de la k-ésima edad del animal anidado en la i-ésima Unidad de producción

Edad (SA)_{kj}= Efecto fijo de la k-ésima edad del animal anidado en el j-ésimo sistema de alimentación

e_{ijkl} = error aleatorio asociado a cada observación (\sim NIID=0, σ^2_e).

Las diferencias entre UPP, edad y sistema de alimentación se obtuvieron a través de medias de mínimos cuadrados (Lsmeans, siglas en inglés) a un $\alpha=0.05$ (Sinha, 2018).

Resultados

Se determinó que en las unidades de producción (UPP) analizadas, la prevalencia de parasitosis gastrointestinal en el ganado bovino fue de 82.5 \pm 37.9%; prevalencia que no fue afectada ($P>0.05$) por la edad del animal (Tabla 1) ni por el sistema de alimentación (Tabla 2): pasto nativo (90.2%) o pasto nativo más forraje arbóreo (74.8 %).

Tabla 1. Prevalencia de parasitosis en el ganado bovino en el municipio de Carácuaro, Michoacán de acuerdo con la edad, UPP y sistema de alimentación

Edad (años)	UPP	Sistema de alimentación (SA)	Prevalencia/UPP \pm E.E.	Prevalencia/Edad \pm E.E.
1 a 3	1	Pasto nativo-forraje arbóreo	50.0 ^a \pm 10.0	87.5 ^a \pm 6.0
	2	Pasto nativo	100.0 ^b \pm 11.0	
	3	Pasto nativo-forraje arbóreo	100.0 ^b \pm 11.0	
	4	Pasto nativo	100.0 ^b \pm 13.0	
4 a 6	1	Pasto nativo-forraje arbóreo	50.0 ^a \pm 10.0	80.3 ^a \pm 5.0
	2	Pasto nativo	100.0 ^b \pm 9.0	
	3	Pasto nativo-forraje arbóreo	100.0 ^b \pm 9.0	
	4	Pasto nativo	71.4 ^{a, b} \pm 8.0	

Literales a, b indican diferencias ($P<0.05$) dentro de columna

Como se puede observar en la Tabla 1, la prevalencia de parasitosis en el ganado bovino fue igual ($P>0.05$) tanto para los animales con edad de 1 a 3 años como para los de 4 a 6 años; aunque si bien, la menor prevalencia de parasitosis se observó en la UPP 1 (50.0%) en ambos rangos de edad (1 a 3 y 4 a 6 años). El mismo comportamiento se observó, cuando se analizó el efecto de la anidación UPP (sistema de alimentación): UPP 1 la que registró menor

prevalencia de parasitosis ($P < 0.05$), en comparación con el resto de las UPP analizadas (Tabla 2).

Tabla 2. Prevalencia de parasitosis en el ganado bovino en el municipio de Carácuaro, Michoacán de acuerdo con la localidad y el sistema de alimentación

UPP	Localidad	Sistema de alimentación (SA)	Prevalencia/UPP \pm E.E.	Prevalencia/SA \pm E.E.
1	Zacapungamio	Pasto nativo-forraje arbóreo	50.0 ^a \pm 7.0	74.8 ^a \pm 6.0
3	Cagüirica II	Pasto nativo-forraje arbóreo	100.0 ^b \pm 7.0	
2	Cagüirica I	Pasto nativo	100.0 ^b \pm 7.0	90.2 ^a \pm 6.0
4	Puerto de Amoles	Pasto nativo	80.0 ^b \pm 7.0	

Literales ^{a, b} indican diferencias ($P < 0.05$) dentro de columna

Para el caso de la carga parasitaria (huevecillos g^{-1} de materia fecal) en el ganado analizado, ésta fue de 4025.7 ± 3635.1 huevecillos g^{-1} de materia fecal (90.3% de CV); promedio que fue afectado ($P < 0.05$) por la edad del animal (Tabla 3); pero, no ($P > 0.05$) por la anidación edad (UPP) (Tabla 4). Con respecto al efecto de la edad sobre el número de huevecillos de parásitos gastrointestinales en el ganado bovino analizado, este fue mayor ($P < 0.05$) en animales de 1 a 3 años (5599.8 ± 713.6 huevecillos g^{-1} de materia fecal) vs animales de 4 a 6 años (2407.1 ± 620.8 huevecillos g^{-1} de materia fecal) (Tabla 3).

Tabla 3. Carga parasitaria en el ganado bovino en el municipio de Carácuaro, Michoacán de acuerdo con la edad y UPP

Edad (años)	UPP	Huevecillos*/UPP		Huevecillos/Edad	
		\pm E.E.	Pr > t	\pm E.E.	Pr > t
1 a 3	1	220.0 ^{& a} \pm 1625.6	0.8928	5599.8 ^a \pm 713.6	<.0001
	2	7812.5 ^b \pm 1285.1	<.0001		
	3	4750.0 ^{bc} \pm 1285.1	0.0005		
	4	9616.6 ^b \pm 1484.0	<.0001		
4 a 6	1	320.0 ^{& a} \pm 1625.6	0.8446	2407.1 ^b \pm 620.8	0.0003
	2	3800.0 ^{ac} \pm 1049.3	0.0006		
	3	2058.3 ^{ac} \pm 1049.3	0.0496		
	4	3450.0 ^a \pm 1149.5	0.0040		

*=Promedio de huevecillos g^{-1} de materia fecal; &= promedio no significativo ($P > 0.05$).

Literales ^{a, b, c} indican diferencias ($P < 0.05$) dentro de columna

En la Tabla 3, se puede observar que, en ambos rangos de edad de la UPP1, el ganado bovino presentó tendencia hacia menor carga parasitaria (220.0 ± 1625.6 y 320.0 ± 1625.6 huevecillos g^{-1}

¹ de materia fecal), ello con respecto al resto de las UPP analizadas. No obstante, dichos promedios no fueron significativos ($P>0.05$) (Tabla 3). En este sentido, se encontró una carga parasitaria de hasta 9616.6 ± 1597.9 huevecillos g^{-1} de materia fecal en los animales de 1 a 3 años en la UPP4, carga igual ($P>0.05$) al de los animales de la misma edad del resto de la UPP evaluadas y, diferente ($P<0.05$), a la carga promedio de los animales de 4 a 6 años de las UPP 1, 2, 3 y 4. No obstante, cuando se analiza la carga parasitaria por sistema de alimentación se observó que, la carga parasitaria de los animales que consumen pasto nativo y forraje arbóreo fueron los que menor carga registraron (2180.0 ± 279.3 huevecillos g^{-1} de materia fecal) (Tabla 4).

Tabla 4. Carga parasitaria en el ganado bovino en el municipio de Carácuaro, Michoacán de acuerdo con el sistema de alimentación y a la edad de los animales

Sistema de alimentación	H*/SA \pm E.E.	Pr > t	Edad	H*/Edad \pm E.E.	Pr > t
			(años)		
Pasto nativo-forraje arbóreo	$2180.0^a \pm 279.3$	<.0001	1 a 3	$3007.6^a \pm 378.2$	<.0001
			4 a 6	$1547.0^b \pm 330.8$	<.0001
Pasto nativo	$5563.8^b \pm 255.0$	<.0001	1 a 3	$8585.7^c \pm 364.5$	<.0001
			4 a 6	$3640.9^a \pm 290.7$	<.0001

SA= Sistema de alimentación; H*=Promedio de huevecillos g^{-1} de materia fecal.

Literales a, b, c indican diferencias ($P<0.05$) dentro de columna

En lo que respecta al género de nemátodos gastrointestinales identificados en las muestras analizadas, se pudo establecer que, la mayor proporción (67.5%) de huevecillos de nemátodos aislados en las muestras correspondió al género *Trichostrongylus sp* ($P<0.05$) al igual que la cantidad de huevecillos registrados (3298.3 ± 436.1 huevecillos g^{-1} de materia fecal), seguido del género *Oesophagostomum sp* (51.2%) con 1270.7 ± 267.7 huevecillos g^{-1} de materia fecal (Tabla 5).

Tabla 5. Género y cantidad de huevecillos de nemátodos gastrointestinales identificados en ganado bovino del municipio de Carácuaro, Michoacán

Genero	n/80	Frecuencia \pm		Huevecillos*	
		E.E.	Pr > t	\pm E.E.	Pr > t
<i>Oesophagostomum sp</i>	41	$51.2^a \pm 3.0$	<.0001	$1270.7^a \pm 267.7$	<.0001
<i>Trichostrongylus sp</i>	60	$67.5^b \pm 3.0$	<.0001	$3298.3^b \pm 436.1$	<.0001
<i>Bunostomum sp</i>	7	$8.7^c \pm 3.0$	0.0141	$671.4^a \pm 238.7$	0.0307
<i>Haemonchus sp</i>	8	$10.0^c \pm 3.0$	0.0050	$1000.0^a \pm 197.3$	0.0014
<i>Dictyocaulus sp</i>	3	$10.0^c \pm 3.0$	0.0050	$766.6^* \pm 569.6$	0.3106

<i>Cooperia sp.</i>	1	1.2 ^{&c} ± 3.0	0.7250	400.0 ^{&} ± 0.0	.
<i>Chabertia sp.</i>	1	1.2 ^{&c} ± 3.0	0.7250	900.0 ^{&} ± 0.0	.

*=Promedio de huevecillos g⁻¹ de materia fecal; &= promedio no significativo (P>0.05).

Literales a, b, c indican diferencias (P<0.05) dentro de columna

En la identificación del género de nemátodos gastrointestinales se aislaron en menor proporción (1.2%) huevecillos de *Cooperia sp* (400.0 huevecillos g⁻¹ de materia fecal) y *Chabertia sp* (900.0 huevecillos g⁻¹ de materia fecal) (Tabla 5); mientras que, *Bunostomum sp*, *Haemonchus sp* y *Dictyocaulus sp* solo se encontraron en 8.7, 10.0 y 10.0% de las muestras analizadas, respectivamente. Además, se pudo observar que, *Trichostrongylus sp* se distribuye por igual (P>0.05) en animales de 1 a 3 años (65.6%) como en animales de 4 a 6 años (68.7%), ello en comparación con *Oesophagostomum sp*: 71.8 y 37.5% para animales de 1 a 3 años y de 4 a 6 años respectivamente (Tabla 6); ambos porcentajes diferentes entre sí (P<0.05). El resto de los nemátodos gastrointestinales identificados en la presente investigación (Tabla 5 y Tabla 6) parasitaron a los animales, de 1 a 3 y 3 a 6 años, dentro de un rango de 1.2 a 15.6%; siendo *Dictyocaulus sp* y *Chabertia sp* los que menos parasitan (2.1%) a los animales de 3 a 6 años y *Cooperia sp* (3.1%) a los animales de 1 a 3 años (Tabla 6).

Tabla 6. Frecuencia de bovinos parasitados del municipio de Carácuaru, Michoacán de acuerdo con el género de nemátodos gastrointestinales identificados en las UPP y a la edad del ganado

Genero	Edad (Años)			
	1 a 3	Pr > t	4 a 6	Pr > t
<i>Oesophagostomum sp</i>	71.8 ^a ± 5.5	<.0001	37.5 ^b ± 4.5	<.0001
<i>Trichostrongylus sp</i>	65.6 ^a ± 5.5	<.0001	68.7 ^a ± 4.5	<.0001
<i>Bunostomum sp</i>	3.1 ^{&a} ± 5.5	0.5718	12.5 ^a ± 4.5	0.0058
<i>Haemonchus sp</i>	15.6 ^a ± 5.5	0.0048	6.2 ^{&a} ± 4.5	0.1664
<i>Dictyocaulus sp</i>	6.2 ^{&a} ± 5.5	0.2583	2.1 ^{&a} ± 4.5	0.6443
<i>Cooperia sp</i>	3.1 ^{&} ± 5.5	0.5718	NA	--
<i>Chabertia sp</i>	NA	--	2.1 ^{&} ± 4.5	0.6443

&= promedio no significativo (P>0.05); NA=No se aisló

Literales ^{a, b} indican diferencias (P<0.05) dentro de fila.

En cuanto a al aislamiento de los géneros de nemátodos identificados de acuerdo con las UPP analizadas se encontró que, *Oesophagostomum sp* afectó a las cuatro UPP dentro de un rango del 45 al 60% de los animales en cada una de UPP (Tabla 7), Mientras que *Trichostrongylus*

sp aun y cuando solo afectó al ganado de las UPP 2, 3 y 4, este nemátodo parasitó entre el 80 y 100% de animales de dichas UPP.

Tabla 7. Frecuencia de bovinos parasitados en el municipio de Carácuaro, Michoacán de acuerdo con el género de nemátodos gastrointestinales identificados y a la UPP

Genero	UPP1	Pr > t	UPP2	Pr > t	UPP3	Pr > t	UPP4	Pr > t
<i>Oesoph</i>	50.0 ^a ±6.2	<.0001	45.0 ^a ±6.2	<.0001	60.0 ^a ±6.2	<.0001	50.0 ^a ±6.2	<.0001
<i>Trichos</i>	NA	--	100.0 ^a ±6.2	<.0001	90.0 ^{a, b} ±6.2	<.0001	80.0 ^b ±6.2	<.0001
<i>Bunost</i>	NA	--	30.0 ^a ±6.2	<.0001	NA	--	5.0 ^{& b} ±6.2	0.4218
<i>Haemon</i>	NA	--	10.0 ^{& a} ±6.2	0.1084	10.0 ^{& a} ±6.2	0.1084	2.0 ^b ±6.2	0.0014
<i>Dicty</i>	NA	--	NA	--	NA	--	15.0±6.2	0.0162
<i>Coop</i>	NA	--	NA	--	NA	--	5.0 ^{&} ±6.2	0.4218
<i>Chab</i>	NA	--	NA	--	5.0 ^{&} ±6.2	0.4218	NA	--

Oesoph= *Oesophagostomum sp*; *Trichos*= *Trichostrongylus sp*; *Bunost*= *Bunostomum sp*; *Haemon*= *Haemonchus sp*; *Dicty*= *Dictyocaulus sp.*; *Coop*= *Cooperia sp*; *Chab*= *Chabertia sp*; &= promedio no significativo (P>0.05); NA=No se aisló
Literales ^{a, b, c} indican diferencias (P<0.05) dentro de fila.

En la Tabla 7, se puede determinar que la UPP4 fue en donde se aisló la mayoría de los géneros identificados en la presente investigación y únicamente el género *Chabertia sp* fue aislado en la UPP3, mientras que los géneros *Dictyocaulus sp* y *Cooperia sp* se aislaron en la UPP3 y UPP4.

Tabla 8. Frecuencia de bovinos parasitados en el municipio de Carácuaro, Michoacán de acuerdo con el género de nemátodos gastrointestinales identificados en las UPP y al sistema de alimentación del ganado

Genero	Sistema de alimentación					
	Pasto-Forraje arbóreo			Pasto Nativo		
	Muestras (%)	Huevecillos* ± E.E.	Pr > t	Muestras (%)	Huevecillos* ± E.E.	Pr > t
<i>Oesoph</i>	55.0 ^a ±4.8	886.3 ^y ±539.4	0.1034	47.5 ^a ±4.8	1715.7 ^y ±580.5	0.0039
<i>Trichos</i>	45.0 ^a ±4.8	2366.6 ^y ±596.4	0.0001	90.0 ^b ±4.8	4313.8 ^z ±421.7	<.0001
<i>Bunost</i>	0.0±0.0	NA	--	17.5±4.8	671.4 ^{&±} 956.3	0.4842
<i>Haemon</i>	5.0 ^{&a} ±4.8	1200.0 ^{&y} ±1789.2	0.5039	15.0 ^a ±4.8	933.3 ^{&y} ±1033.0	0.3683
<i>Dicty</i>	0.0±0.0	NA	--	7.5 ^{&} ±4.8	766.6 ^{&±} 1460.9	0.6008
<i>Coop</i>	0.0±0.0	NA	--	2.5 ^{&} ±4.8	400.0 ^{&}	0.8747
<i>Chab</i>	2.5 ^{&} ±4.8	900.0 ^{&}	0.7228	0.0±0.0	NA	--

Oesoph= *Oesophagostomum sp*; *Trichos*= *Trichostrongylus sp*; *Bunost*= *Bunostomum sp*; *Haemon*= *Haemonchus sp*; *Dicty*= *Dictyocaulus sp.*; *Coop*= *Cooperia sp*; *Chab*= *Chabertia sp*; * = Promedio de huevecillos g⁻¹ de materia fecal; &= promedio no significativo (P>0.05); NA=No se aisló
Literales ^{a, b} indican diferencias (P<0.05) para porcentajes entre sistemas de alimentación.
Literales ^{y, z} indican diferencias (P<0.05) para huevecillos entre sistemas de alimentación.

Finalmente, se pudo observar que, en el sistema de alimentación a base de pasto nativo-forraje arbóreo fue donde se encontró menor cantidad de géneros de nematodos gastrointestinales

identificados (cuatro de siete) en la presente investigación (Tabla 8); entre los que destacan *Oesophagostomum sp* y *Trichostrongylus sp*, ello en comparación con el sistema de alimentación a base de pasto nativo, en donde se aislaron todos los géneros identificados excepto *Chabertia sp* (Tabla 8).

Discusión

Los resultados obtenidos sugieren que, no obstante el método de control parasitario que utilizan los ganaderos de la región de tierra caliente o trópico seco, se observó una prevalencia de $82.5 \pm 37.9\%$ en explotaciones extensivas de ganado en pastoreo (García, 2001), estos resultados son similares a los hallazgos de investigaciones del trópico de Guerrero (78.27%) (Olivares *et al.*, 2006), o en sistemas de extensivos en entidades (62.31% y 80.15%) (Encalada-Mena *et al.*, 2008), que comparten características edafológicas, fisiográficas, climáticas e hidrográficas similares al municipio de estudio (Ortiz *et al.*, 2016).

El sistema de alimentación es un factor capaz de mitigar el parasitismo (Soca *et al.*, 2007), la inclusión de forraje arbóreo en la ingesta diaria de alimento reduce el valor de la prevalencia (74.8%) en contraste con los que basan su dieta solo en pasto nativo (90.2%), siendo la temporada de lluvias donde se registran valores más altos de este coeficiente (Dominguez *et al.*, 1993), además se observó que en el sistema pasto nativo-forraje arbóreo la carga parasitaria fue menor ($2180.0 \pm 279.3 \text{ hg}^{-1}\text{mf}$) en comparación con sistema pasto nativo ($5563.8 \pm 255.0 \text{ hg}^{-1}\text{mf}$), estos valores numéricos parecen concordar con otras fuentes de información, quienes indican que el sistema de alimentación que incluye forraje arbóreo, demostraron reducir la Nematodiasis, investigaciones *in vivo* sugieren que al favorecer los principios esenciales para el control de los nemátodos gastrointestinales como: optimización de los sistemas de pastoreo, la estimulación de la respuesta del hospedero y la modulación de la biología del parásito, permiten lograr la regulación integrada y sostenible de las infestaciones por helmintos (Hoste y Torres-Acosta, 2011).

Además las especies arbóreas son consideradas nutraceuticas no solo por ser un alimento de excelente calidad nutricional, también aportan beneficios a la salud animal por poseer metabolitos secundarios, estos a través de la disminución en el nivel de ovoposición del parásito adulto, la afectación en la eclosión de los huevecillos, la alteración en el desarrollo, la

motilidad y la muda en las larvas y la disminución en la viabilidad de los parásitos adultos, todos estos efectos representan una alternativa para disminuir la incidencia de enfermedades en los animales, provocadas por parásitos gastrointestinales, en los trópicos (López-Vigoa *et al.*, 2017).

Soca *et al.* (2007), sugieren que los sistemas que incorporan especies arbóreas o arbustivas promueven el desarrollo de la fauna edáfica (coleópteros), que tienen una participación destacada en los procesos de descomposición de la materia fecal de bovinos, lo cual contribuye a la disminución del potencial parasitario de las excretas.

Se determinaron siete géneros de nematodos gastrointestinales, aspecto que concuerda con lo referido en el trópico seco mexicano (Olivares *et al.*, 2006), de manera general *Trichostrongylus* sp, fue el que más parasitó (67.5%), seguido de *Oesophagostomum* sp, con un índice de frecuencia de 51.2%; en lo que respecta al sistema que incluye ingesta de forraje arbóreo fue donde menor número de géneros de nemátodos gastrointestinales se aislaron: *Oesophagostomum* sp, *Trichostrongylus* sp, *Haemonchus* sp y *Chabertia* sp; así como, menor cantidad de huevecillos, ello sugiere, que la ingesta de forraje arbóreo puede controlar el crecimiento y desarrollo de *Bunostomum* sp, *Cooperia* sp y *Chabertia* sp.

En la UPP 4 fue en donde se registraron seis géneros de los siete identificados, entre ellos, *Dictyocaulus* sp; éste fue un hallazgo importante, puesto que dicho nematodo es característico de regiones con clima templado o frío (Junquera, 2016), ello sugiere, la introducción de animales procedentes de climas templados o fríos, pero es necesario monitorear este tipo de nematodos, pues existe la posibilidad de que se adapten a la región de Tierra Caliente de Michoacán, resultados que coinciden con hallazgos de previas investigaciones (Navarro, 2002; Balderas, 2005).

Conclusión

Los resultados permiten concluir que: existe prevalencia de Nematodiasis gastrointestinal en los bovinos muestreados de la región del trópico seco de $82.5 \pm 37.9\%$, la carga parasitaria es mayor en animales jóvenes que en adultos (5599.8 ± 713.6 vs 2407.1 ± 620.8 $hg^{-1}mf$ respectivamente), la carga parasitaria fue menor en el sistema de pastoreo que incluye forraje

arbóreo (2180 ± 279 hg⁻¹mf) vs solo pasto, sin forraje arbóreo (5563 ± 255 hg⁻¹mf). Además, se diagnosticaron siete géneros de nematodos, de éstos, tres *Oesophagostomum* sp, *Trichostrongylus* sp, *Haemonchus* sp y *Chabertia* sp, en el sistema de alimentación con forraje arbóreo, en tanto que, para los sistemas que no incluyen dicho forraje, también se encontraron *Oesophagostomum* sp, *Trichostrongylus* sp, *Bunostomum* sp, *Haemonchus* sp, *Dictyocaulus* sp y *Cooperia* sp.

Bibliografía

- Angulo-Cubillán FJ. 2005. Nematodosis Gastrointestinales. Manual de Ganadería Doble Propósito. Cátedra de Enfermedades Parasitarias, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad del Zulia. Maracaibo-Venezuela. Pp 377-383.
- Ávalos GA y Pérez-Urria CE. 2009. Metabolismo secundario de plantas. Recursos Educativos Serie Fisiología Vegetal (Biología). Serie Fisiología Vegetal; 2(3): 119-145.
- Balderas PJF. 2005. Efecto de tres antihelmínticos en nematodos gastrointestinales de bovinos en el municipio de Carácuaro Michoacán [Tesis de Licenciatura]. Morelia, Michoacán México: Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
- Benavides OE y Romero NA. 2008. El control de los parásitos internos del ganado en sistemas de pastoreo en el trópico colombiano. Engormix; [Artículos técnicos]. Consulta 17 Oct, 2017: <https://www.engormix.com/ganaderia-carne/articulos/control-parasitos-internos-ganado-t27422.htm>.
- Domínguez AJL, Rodríguez-Vivas RI, Honhold N. 1993. Epizootiología de los parásitos gastrointestinales en bovinos del estado de Yucatán. Revista Veterinaria Mexico; 24(3):187-193.
- Encalada-Mena LA, López Arellano ME, Mendoza de Gives P, Liébano Hernández E, Vázquez Prats V, Vera Ycuspínera G. 2008. Primer informe en México sobre la presencia de resistencia a ivermectina en bovinos infectados naturalmente con nematodos gastrointestinales. Revista Veterinaria México; 39 (4):423-428.14
- Esquivel RMÁ. 2015. Ovinos en pastoreo: Evitemos la parasitosis. Laboratorios Veterinarios. Consulta: <http://www.lavet.com.mx/ovinos-pastoreo-evitemos-parasitosis/>.
- García SE. 2001. Opciones Bayer para el control de parásitos internos del ganado. Revista Bayer Veterinaria; 5(4), 19. Consulta: <https://www.sanidadanimal.bayer.com.mx/es/revista-bayvet/index.php>

- González PE, Dávalos FJL, Rodríguez RO. 2015. Estado del arte sobre investigación e innovación tecnológica en ganadería bovina tropical. Red de Investigación e Innovación para la Ganadería Bovina tropical. [LIBRO TÉCNICO]; ISBN 978-607-37-0556-1. Impreso en México. Pp 227.
- Guibbons ML, Dennis EJ, Mark TF, Jorgen HCM. 2016. Examen fecal para determinación de helmintos parásitos. Guía RVC/FAO para el diagnóstico parasitológico veterinario.
- Hoste H y Torres-Acosta JFJ. 2011. Non chemical control of helminths in ruminants: adapting solutions for changing worms in a changing world. *Veterinary Parasitology*; 180:144-15.
- INEGI Instituto Nacional de Estadística y Geografía. 2017. Mapa Digital de México. Sistema de Información Geográfica. Consulta: <http://www.inegi.org.mx/geo/contenidos/mapadigital/>
- INEGI Instituto Nacional de Estadística y Geografía. 2010. Anuario Estadístico del Estado de Michoacán. Ed. 2009-2010. Pp 127-142.
- Junquera P. 2016. *Dictyocaulus* sp. Gusanos nematodos parásitos pulmonares del ganado bovino, ovino y caprino, y de caballos: biología, prevención y control. Parasitipedia.net. Consulta 24-10-2017: http://parasitipedia.net/index.php?option=com_content&view=article&id=169&Itemid=248
- López AME, Mendoza de GP, Aguilar ML, Liébano HE. 2010. Buenas prácticas en el manejo de antihelmínticos para el control de parásitos en rumiantes. Folleto Técnico No. 8 1^{ra} Ed. ISBN: 978-607-425-477-8.
- López-Vigoa O, Sánchez-Santana T, Iglesias-Gómez JM, Lamela-López L, Soca-Pérez M, Arece-García J, Milera-Rodríguez M de la C. 2017. Los sistemas silvopastoriles como alternativa para la producción animal sostenible en el contexto actual de la ganadería tropical. *Pastos y Forrajes*; 40(2):83-95.4.
- Márquez D, Jiménez G, García F, Garzón C. 2008. Resistencia a los antihelmínticos en nematodos gastrointestinales de bovinos en municipios de Cundinamarca y Boyacá. *Corpoica*; 9 (1):113-123.
- Martínez GM y Marí BM. 2010. La distribución binomial. Departamento de Estadística, Investigación Operativa Aplicadas y Calidad, Universidad Politécnica de Valencia. Consulta: <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/7936/Distribucion%20binomial.pdf>

- Martínez PMA y Mayorga ML. 2010. Estudio de carga parasitaria de nematodos gastrointestinales en bovinos en los departamentos de León y Chinandega en el periodo de Abril-Septiembre del 2009. [Tesis de licenciatura]. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua.
- Medina P, Guevara F, La O M, Ojeda N, Reyes E. 2014. Resistencia antihelmíntica en ovinos: una revisión de informes del sureste de México y alternativas disponibles para el control de nemátodos gastrointestinales. *Pastos y Forrajes*; 37(3):257-263.
- Mejía HJ. 2002. Consumo voluntario de forraje por rumiantes en pastoreo. *Acta Universitaria*; 12(3):56-63.
- Molina-Mercado VM, Gutiérrez-Vázquez E, Herrera-Camacho J, Gómez-Ramos B, Ortiz-Rodríguez R y Santos Flores J. 2008. Caracterización y modelación gráfica de los sistemas de producción bovina en Tierra Caliente, Michoacán: 1. Bovinos productores de carne. *Livestock Research for Rural Development Colombia*, 20 (2):1-9.
- Navarro LA. 2002. Estudio observacional de la parasitosis gastrointestinal en el ganado bovino de la región de Tierra Caliente, Michoacán. [Tesis de Licenciatura] Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Morelia, Michoacán. México.
- Olivares Pérez J, Segura Isidro G, Valencia Almazán M. 2006. Prevalencia de nematodos gastroentéricos en terneros predestete del trópico de Guerrero, México, durante la época lluviosa. *Revista Electronica de Veterinaria*; VII (11), 1-5.10
- Ortiz PCF, Ortega GAM, Infante JZT. 2016. Agricultura, vulnerabilidad y riesgos ante el cambio climático en la región tierra caliente, Michoacán. 21° Encuentro Nacional sobre Desarrollo Regional en México. Mérida, Yucatán. Asociación Mexicana de Ciencias para el Desarrollo Regional.
- Palma GJM. 2014. Escenarios de sistemas de producción de carne de bovino en México. *Avances en Investigación Agropecuaria*; 18(1): 53-62.
- Pérez LH. 2006. Nutraceuticos: componente emergente para el beneficio de la salud. Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azucar; XL (3), 20-28.
- Quijada J, Rivera M, González C, Vivas I, Simoes D, Ramírez R. 2006. Prevalencia de infecciones con estróngilos digestivos en bovinos doble propósito de la zona de Tucacas, estado Falcón, Venezuela. *Zootecnia Tropical*; 24(3), 347-360.
- Rodríguez-Vivas RI, Grisi L, Pérez de León AA, Silva Villela H, Torres-Acosta JF de J, Fragoso Sánchez H, Romero-Salas D, Rosario-Cruz R, Saldierna F, García-Carrasco

- D. 2017. Potential economic impact assessment for cattle parasites in Mexico. Review. Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias; 8(1):61-74.
- Román PH. 2007. Potencial de producción de los bovinos en el trópico de México. Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias. SARH. Centro Experimental Pecuario. Paso del Toro. Veracruz. México. Consulta: www.fmvz.unam.mx/fmvz/cienciavet/revistas/CVvol3/CVv3c12.pdf.
- Sinha SP. 2018. Diseño y análisis de experimentos. Instituto de Estadística Aplicada y Computación. Universidad de los Andes Mérida, Venezuela. Consulta 6-03-2018; <http://webdelprofesor.ula.ve/economia/sinha/index.htm#beg>
- Soca M, Simón L, Roque E. 2007. Árboles y nemátodos gastrointestinales en bovinos jóvenes: Un nuevo enfoque de las investigaciones. Pastos y Forrajes; 30(Supl. 5):1.
- Soca M, Roque E, Soca M. 2005. Epizootiología de los nemátodos gastrointestinales de los bovinos jóvenes. Pastos y Forrajes; 28(3):175-185.
- Torres VP, Prada SGA, Márquez LD. 2007. Resistencia antihelmíntica en los nemátodos gastrointestinales del bovino. Revista de Medicina Veterinaria; 13: 59-76.

EFECTO ANTIHELMÍNTICO DE EXTRACTOS DE *Caesalpinia platyloba* EN HUEVECILLOS Y LARVAS (L₃) DE *Strongyloides* GASTROINTESTINALES

Gamiño-Avalos O¹, Gutiérrez-Vázquez E¹, del Río R E², Juárez- Caratachea A¹, Salas-Razo G¹, Guzmán-Lara D³ y Ortiz-Rodríguez R³

¹Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (IIAF) de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH), Km 9.5 Carretera Morelia-Zinapécuaro, Tarímbaro, Michoacán, México. CP 58880; ²Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas-UMSNH, Ciudad Universitaria, Morelia, Michoacán 58030, México; ³Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia-UMSN. Km 9.5 Carretera Morelia-Zinapécuaro, Tarímbaro, Michoacán, México. CP 58880.

RESUMEN

Los extractos vegetales de especies arbóreas de las Leguminosae, muestran efecto nematicida, asociado a la interacción de los metabolitos secundarios, con las proteínas que recubren el huevecillo y la larva. Por ello se evaluó el efecto antihelmíntico de extractos de *Caesalpinia platyloba* en huevecillo y larva (L₃) de *Strongyloides* gastrointestinales. Se ensayó 0.1ml de una muestra que contenía aproximadamente 30 huevecillos y 21 larvas del tercer estadio, a la concentración de 40 mg ml⁻¹ de los extractos de *Caesalpinia platyloba*, posteriormente del extracto diclorometánico de hoja, se disminuyó la concentración en 30, 25, 20, 15, 10 y 5 mg ml⁻¹, los resultados se analizaron mediante la metodología de los modelos lineales generalizados (GLM) y las diferencias ($\alpha=0.05$) se obtuvieron a través de medias de mínimos cuadrados (Lsmeans). Las pruebas bio-dirigidas sobre los estadios mostraron una efectividad del extracto diclorometánico de hoja sobre la inhibición en la eclosión de huevecillos de 60.7±2.7% y sobre la migración larval de 92.2±5.1, resultados superiores a los obtenidos por los demás extractos, en la prueba de tolerancia la selectividad de los extractos orienta la actividad antihelmíntica hacia los huevecillos debido a que la tasa de los no viables disminuye en 1.837~2.0%, conforme se reduce la concentración en 5mg ml⁻¹, no así en la migración larval. Estos resultados sugieren que, los metabolitos presentes en los extractos de *Caesalpinia platyloba* provocan efecto directo sobre huevecillos alterando el medio evitando la eclosión y en algunos casos generando la lisis de la membrana proteica, además de que frena la movilidad de la larva provocando la reducción de la migración larval.

Palabras clave: antihelmínticos naturales, pruebas bio-dirigidas, tratamientos alternativos, alimentos inocuos, contaminación ambiental

ABSTRACT

The vegetal extracts of tree species of legumes, nematicide effect associated with the interaction of secondary metabolites, with proteins that cover the egg and larva. Therefore, the anthelmintic effect of *Caesalpinia platyloba* extracts in egg and larva (L₃) of gastrointestinal *Strongyloides* was assessed. It faced 0.1 ml of a sample containing approximately 30 eggs and 21 larvae of the third stage, at the concentration of 40, mg ml⁻¹ of the extracts of *Caesalpinia Platyloba*, after the leaf dichloromethane extract, the concentration was decreased by 30, 25, 20, 15, 10 and 5 mg ml⁻¹, the information collected was analyzed through the methodology of the generalized linear models (GLM) and the differences ($\alpha=0.05$) were obtained through means of least squares (Lsmeans). The bio-directed tests on the stages showed an effectiveness of the extract dichloromethane of leaf on the inhibition in the hatching of eggs of 60.7 ± 2.7 and on the larval migration of 92.2 ± 5.1 , results superior to those obtained by the others extracts, the test of tolerance the selectivity of the extracts orients the activity anthelmintic towards the eggs because the rate of the nonviable decreases by 1,837~2.0%, as it is reduced the concentration in 5mg ml⁻¹, not so in the larval migration. These results suggest that the metabolites present in the extracts of *Caesalpinia platyloba* cause an effect direct on eggs by altering the environment avoiding eclosion and in some cases generating the lysis of the protein membrane, in addition to braking the larval mobility resulting in reduced larval migration.

Key words: natural anthelmintics, bio-directed tests, alternative treatments, safe food, environmental pollution

Introducción

En los sistemas extensivos de producción pecuaria del trópico seco, se identifica la alimentación a base de pastoreo (Molina-Mercado *et al.*, 2008), lo cual, propicia enfermedades al ganado, causadas por parásitos del tracto digestivo (Balderas, 2005; Soca *et al.*, 2005), el uso frecuente de antihelmínticos para el control este tipo de parásitos (Cuéllar, 2003), ha sido una de las causas que provoca el desarrollo de resistencia en las especies de nematodos gastrointestinales (López *et al.*, 2015), además, de causar problemas de contaminación en productos pecuarios, por residuos químicos constituyendo un peligro para la salud pública (Márquez, 2008; Zapata *et al.*, 2013).

Este método de control, ha mostrado limitaciones para su implementación, uso irracional, nula rotación de compuestos químicos, además del incremento de las dosis señaladas (Encalada-Mena *et al.*, 2008), lo cual origina interés por la búsqueda de alternativas para tratar enfermedades parasitarias (Morales, 1991; Olivares *et al.*, 2006), con la finalidad de proponer métodos alternativos, la industria farmacéutica ha realizado investigaciones tendientes a descubrir nuevos compuestos químicos para controlar los nematodos del ganado, mismas que involucran el control biológico, a través de hongos nematófagos (Sagüés *et al.*, 2011), producción de vacunas contra helmintos (Cruz *et al.*, 2017), inmunonutrición (Basabe *et al.*, 2009) y estudios genéticos tendientes a producir animales resistentes a helmintos (Núñez-Domínguez *et al.*, 2016). Además, experimentos sobre la influencia de la suplementación proteica en la dieta, que podría mejorar la respuesta a la vacunación y en el desarrollo de animales inmunorresistentes (Herrera *et al.*, 2010).

Con el propósito de obtener productos pecuarios alimenticios inocuos, disminuir la resistencia antihelmíntica de los nematodos y evitar la contaminación del ambiente, con residuos de productos químicos sintéticos (Githiori *et al.*, 2006; Marie-Magdeleine *et al.*, 2010), en las explotaciones ganaderas del trópico seco, el sistema agroforestal ha sido propuesto como alternativa de manejo, por demostrar potencial para contribuir a la disminución de las cargas parasitarias en los bovinos (Soca *et al.*, 2007); Otero e Hidalgo (2004), han propuesto que los productos naturales de las especies vegetales provocan efecto directo e indirecto en la interacción metabolito-hospedador.

Las especies arbóreas de la región de la tierra caliente en Michoacán, además de ser utilizadas como forraje por su alto contenido de proteína y fósforo lo cual representa una oportunidad de ahorro para los productores, mediante la optimización de los recursos naturales endémicos, son referidos con potencial medicinal para animales (González *et al.*, 2006 y 2007), una de estas especies es la *Caesalpinia platyloba*, especie arbórea endémica de la región del trópico seco perteneciente a la familia Leguminosae, misma que constituye un recurso maderable, las hojas son consumidas por el ganado y los productores hacen referencia a que esta especie, propicia la desparasitación natural del ganado (López, 2015).

Los estudios *in vitro* que utilizan extractos vegetales de especies arbóreas, principalmente de la familia Leguminosae, han demostrado efectos sobre los estadios de huevecillo y larva infectante (L₃) de nematodos gastrointestinales, (Martínez *et al.*, 2010; López *et al.*, 2015), asociado a la interacción de los metabolitos secundarios (terpenos, compuestos fenólicos, glicósidos y alcaloides), presentes en los extractos, con las proteínas que recubren el huevecillo y la cutícula de la larva. (Torres-Acosta *et al.*, 2008; Corona-Palazuelos *et al.*, 2016), siendo las pruebas de inhibición de la eclosión de huevos y de migración larvaria, ampliamente usadas como técnicas apropiadas para evaluar extractos de plantas, debido a su practicidad y bajo costo (López *et al.*, 2015). Las pruebas de tolerancia, se proponen como técnicas para determinar la toxicidad de compuestos potencialmente biocidas contra organismos patógenos (Di Rienzo, 2010; Rueda *et al.*, 2013).

Por lo que, el objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto antihelmíntico de los extractos de la planta *Caesalpinia platyloba*, sobre estadios de huevecillo y larvas infestantes (L₃), de nematodos gastrointestinales pertenecientes a la suborden *Strongylida*.

Materiales y Métodos

Área de estudio

El trabajo se realizó en el laboratorio de la Unidad de Servicios Auxiliares para el Diagnóstico de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (USAD-FMVZ), mediante el proceso de preparación, lavado, concentración y recuento se recuperaron huevecillos, las larvas (L₃) fueron proporcionadas por el auxiliar académico del laboratorio de parasitología de la Facultad

de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Guerrero (UAGro), en el Instituto de Investigaciones Químico Biológicas (IIQB) se obtuvieron los extractos de la *Caesalpinia platyloba* [número de registro del herbario de la UMSNH: 003087] mediante maceración con disolventes, concentración en rota-evaporador y para realizar la prueba biológica fueron diluidos con dimetil sulfóxido (DMSO).

Técnica de inhibición de la eclosión de huevecillos

Para el desarrollo de la técnica se utilizaron tubos de ensayo en los cuales se colocó 0.1 ml de muestra que contenía 30 huevos de *Strongyloides* gastrointestinales, a la que se le adicionó: 0.4 ml de la solución preparada con extracto a concentración de 40 mg ml⁻¹ de extractos, se incubaron por 48 h a temperatura de 28 °C. Transcurrido el tiempo de incubación se añadió una gota de yodo para detener la eclosión y realizar el conteo del número de huevecillos y larvas L₁, con el uso un microscopio. Como controles se utilizaron: agua destilada y Fenbendazol (Pérez-Pérez *et al.*, 2014), además de evaluar un control con DMSO (Puerto *et al.*, 2014).

Técnica de la inhibición en la migración larval

El estudio de inhibición de la migración larvaria, consistió en enfrentar larvas del tercer estadio (L₃), a la concentración de 40 mg ml⁻¹ de los extractos de *Caesalpinia platyloba*. Para ello se utilizaron tubos plásticos de 2 ml a los cuales se le agregó 0.4 ml de extracto diluido y larvas (L₃) de *Strongyloides* gastrointestinales, suspendidas en 0.1 ml de solución acuosa, se expusieron a los extractos por 2 h en un tubo de ensayo, transcurrido el tiempo de exposición, se hicieron migrar a través de un tamiz de 56 micras (µm). Posteriormente, se determinó la cantidad de larvas migradas y se calculó el porcentaje de inhibición de la migración. Como controles se utilizaron agua destilada y DMSO (Moreno *et al.*, 2010; Puerto *et al.*, 2014; Schapiro *et al.*, 2015).

Prueba de tolerancia

Para evaluar la tolerancia de los parásitos al extracto que presente mayor eficacia, en las técnicas de inhibición en la eclosión de huevecillos y migración larval se probaron las diluciones a 30, 25, 20, 15, 10 y 5 mg ml⁻¹

Análisis estadístico

El diseño estadístico fue un factoria 3x2 y el análisis estadístico fue a través de los modelos de efectos fijos bajo el siguiente modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + Ex_i + Ov_j + Ex_i * Ov_j + e_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} = Mortalidad de huevecillos, Huevecillos no eclosionados, Larvas (L_1) vivas post-incubación

μ = media general

Ex_i = Extracto como efecto fijo con i-ésimo = Hexánico, Dicloro-metánico y Metanólico

Ov_j = Organo vegetal como efecto fijo con j-ésimo = tallo y hoja

$Ex_i * Ov_j$ = Interaccion Extracto como efecto fijo con i-ésimo extracto * Organo vegetal como efecto fijo con j-ésimo organo.

e_{ijk} = error aleatorio asociado a cada observación (\sim NIID=0, σ^2_e).

Las diferencias entre tratamientos se obtuvieron a través de medias de mínimos cuadrados (Lsmeans) con $\alpha=0.05$ (Sinha, 2018).

Para determinar el efecto de las diferentes concentraciones del extracto sobre huevecillos de *Strongyloides* gastrointestinales se utilizó la metodología de los modelos de efectos fijos mediante el siguiente modelo:

$$Y_{ij} = \mu + DEx_i + e_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = Huevecillos no eclosionados, Huevecillos rotos, Larvas (L_1) vivas

μ = media general

DEx_i = Dosis del extracto como efecto fijo con i-ésima = 5, 10, 15, 20 25 y 30

e_{ijk} = error aleatorio asociado a cada observación (\sim NIID=0, σ^2_e).

Las diferencias entre dosis se obtuvieron a través de medias de mínimos cuadrados (Lsmeans) con $\alpha=0.05$ (Sinha, 2018).

Para establecer la dosis optima del extracto se utilizaron los estimadores de la regresión lineal y cuadrática ($\beta_0, \beta_1, \beta_2$) y, para evaluar la tolerancia de los huevecillos y larvas (L₃) al extracto se utilizó el análisis Probit (Puerto *et al.*, 2014).

Resultados

La viabilidad de huevecillos de *Strongyloides* gastrointestinales expuestos se determinó durante la incubación *in vitro* a extractos (40 mg ml⁻¹) de órganos vegetales (tallo y hoja) de *Caesalpinia platyloba*, la cual fue afectada (P<0.001) por el tratamiento (tipo de extracto) (Tabla 1). Al respecto, los extractos de diclorometánico y metanólico de *Caesalpinia platyloba* fueron los que ocasionaron mayor tasa (%) de mortalidad en huevecillos (60.7 y 48%) respectivamente (P<0.05). Sin embargo, el extracto hexánico de hoja de *Caesalpinia platyloba* fue el que mostró mayor tasa (%) de huevecillos no eclosionados (60.0±3.2%), en comparación con el resto de los extractos evaluados; no obstante, con este extracto se observó mayor tasa de larvas L₁ vivas (29.3 a 38.0%) post-incubación (P<0.05), en comparación con los extractos diclorometánico (5.3 a 12.0%) o el metanólico (6.7%) (Tabla 1).

Tabla 1. Medias de mínimos cuadrados para mortalidad e inhibición de eclosión de huevecillos de *Strongyloides* gastrointestinales post-incubación bajo extractos (40 mg ml⁻¹) de órganos vegetales (tallo y hoja) de *Caesalpinia platyloba*

Extracto	Organo vegetal	Huevecillos* viables	Mortalidad& de huevecillos	Huevecillos& no eclosionados	Larvas (L ₁)& vivas post-incubación
Hexánico	Tallo	30	6.0 ^a ±2.7	56.0 ^a ±3.2	38.0 ^a ±2.0
	Hoja	30	10.7 ^b ±2.7	60.0 ^b ±3.2	29.3 ^a ±2.0
Dicloro- metánico	Tallo	30	53.3 ^c ±2.7	34.7 ^c ±3.2	12.0 ^b ±2.0
	Hoja	30	60.7 ^c ±2.7	34.0 ^c ±3.2	5.3 ^b ±2.0
Metanólico	Tallo	30	42.0 ^c ±2.7	51.3 ^{ad} ±3.2	6.7 ^b ±2.0
	Hoja	30	48.0 ^c ±2.7	45.3 ^c ±3.2	6.7 ^b ±2.0
	Blancos				
	Fenbendazol	30	94.0 ^d ±2.7	6.0 ^f ±3.2	0.0 ^c
	DMSO	30	0.0 ^e	64.7 ^{ad} ±3.2	35.3 ^a ±2.0
	Agua	30	0.0 ^e	6.7 ^f ±3.2	93.3 ^d ±2.0

*=Incubados; &=Tasa (%); † = no significativo (p>0.05)

Literales ^{a, b, c, d, e} indican diferencias ($p < 0.05$) dentro de columnas

En relación con el efecto de diferentes concentraciones, del extracto diclorometánico de *Caesalpinia platyloba*, sobre huevecillos de *Strongyloides* gastrointestinales incubados *in vitro*, se encontró efecto de dosis ($P < 0.001$), sobre la tasa de huevecillos no viables (no eclosionados) y rotos, más no sobre la tasa de larvas vivas ($P > 0.05$) post-incubación (Tabla 2). En lo que respecta a la tasa de huevecillos no eclosionados se determinó un efecto lineal sobre los huevos expuestos ($\beta_1 = -1.837$; $P < 0.001$), a diferentes concentraciones de extracto diclorometánico; es decir, por cada 5 mg mL^{-1} más en la concentración del extracto, la tasa disminuye en $1.837 \sim 2.0\%$ de huevecillos no viables (Tabla 2). En la presente investigación se observó que la mayor tasa de huevecillos no eclosionados ($P < 0.05$) fue a una concentración del extracto diclorometánico a dosis de 5 mg mL^{-1} ($76.6 \pm 1.6\%$) vs 30 mg mL^{-1} ($45.3 \pm 1.6\%$).

Tabla 2. Medias de mínimos cuadrados para el comportamiento *in vitro* de huevecillos de *Strongyloides* gastrointestinales expuestos a diferentes concentraciones (mg mL^{-1}) de extracto diclorometánico de *Caesalpinia platyloba*

Concentración (mg mL^{-1})	Post-incubación de huevecillos					
	Huevecillos ^{&} no eclosionados		Huevecillos ^{&} rotos		Larvas ^{&} (L1) vivas	
	$\bar{X} \pm \text{E.E.}$	Pr > t	$\bar{X} \pm \text{E.E.}$	Pr > t	$\bar{X} \pm \text{E.E.}$	Pr > t
5	$76.6^a \pm 1.6$	<.0001	$13.3^a \pm 2.1$	<.0001	$10.0^a \pm 1.5$	<.0001
10	$66.6^b \pm 1.6$	<.0001	$22.0^b \pm 2.1$	<.0001	$9.3^a \pm 1.5$	<.0001
15	$58.6^c \pm 1.6$	<.0001	$33.3^c \pm 2.1$	<.0001	$8.0^a \pm 1.5$	<.0001
20	$58.6^c \pm 1.6$	<.0001	$34.6^c \pm 2.1$	<.0001	$6.6^a \pm 1.5$	0.0002
25	$48.6^d \pm 1.6$	<.0001	$46.0^d \pm 2.1$	<.0001	$5.3^a \pm 1.5$	0.0016
30	$45.3^d \pm 1.6$	<.0001	$49.3^d \pm 2.1$	<.0001	$5.3^a \pm 1.5$	0.0016
Estimadores para la regresión lineal y cuadrática						
Parámetro	Estimador	Pr > t	Estimador	Pr > t	Estimador	Pr > t
β_0	84.3992^\dagger	0.3994	3.3318^\dagger	0.3994	11.66680	<.0001
β_1	-1.83708	0.0003	2.11441	0.0003	-0.2928 [†]	0.3877
β_2	0.01809^\dagger	0.1921	-0.0190 [†]	0.1921	0.0023^\dagger	0.8006
R^2	0.87		0.87		0.26	

[&]=Tasa (%); [†] = no significativo ($p > 0.05$)

Literales ^{a, b, c, d, e} indican diferencias ($p < 0.05$) dentro de columnas

En cuanto al efecto de la dosis de extracto diclorometano de *Caesalpinia platyloba* sobre la tasa de huevecillos rotos post-incubación se observó que a mayor concentración de extracto

($\beta_1=2.114$; $P<0.001$) mayor tasa de huevecillos rotos. En este sentido, las concentraciones de 25 y 30 mg mL⁻¹ lograron una tasa de 46.0±2.1 y 49.3±2.1% de huevecillos rotos; valores sin diferencias significativas ($P>0.05$) entre sí (Tabla 2). Finalmente, no se encontró efecto de concentración ($P>0.05$) de dicho extracto sobre la tasa de larvas vivas post-incubación, la cual osciló entre 5.3 a 10.0% (Tabla 2). No obstante, el análisis estadístico bajo el método Probit, determinó ($P<0.05$) que la tasa de supervivencia de los huevecillos de *Strongyloides* gastrointestinales expuestos a una concentración de 32.0 mg ml⁻¹ del extracto diclorometánico de *Caesalpinia platyloba* logra en el límite inferior una supervivencia del 0.11% y en el límite superior del 30.2% (Figura 1). Mientras que los huevecillos expuestos al extracto diclorometano a una concentración de 80 mg ml⁻¹ alcanzarían, en el límite inferior, una supervivencia del 0.0% y en el límite superior sería de 9.2% (Figura 1).

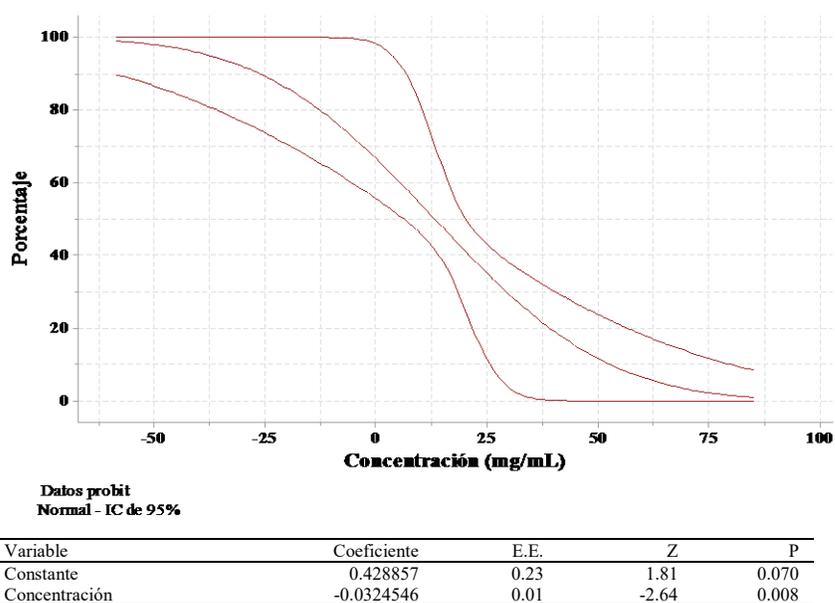


Figura 1. Supervivencia de huevecillos a larvas (L₁) post-incubación bajo exposición del extracto diclorometánico de *Caesalpinia platyloba*

Referente a la exposición (*in vitro*) de larvas viables (L₃) de *Strongyloides* gastrointestinales a extractos de órganos vegetales (tallo y hoja) de *Caesalpinia platyloba* se determinó que, bajo condiciones de agua o DMSO la tasa de migración ($\geq 88.2\%$) de las larvas fue mayor ($P<0.05$) en comparación con la exposición de los diferentes extractos evaluados (Tabla 3). Al respecto,

el extracto hexánico del tallo de la hoja de *Caesalpinia platyloba* fue el que mayor tasa de migración causó en las larvas cultivadas *in vitro* ($33.7 \pm 5.8\%$), ello en comparación con el resto de los extractos evaluados (Tabla 3). No obstante, este mismo extracto presentó menor ($P < 0.05$) tasa de larvas no migradas ($66.2 \pm 3.2\%$) en comparación con los extractos diclorometánico y metanólico de tallo (79.5 ± 5.1 y $83.7 \pm 5.1\%$, respectivamente) (Tabla 3). En cuanto a los extractos de hoja de *Caesalpinia platyloba* el extracto diclorometánico fue el que presentó mayor mortalidad de larvas ($92.2 \pm 5.1\%$), pero solo mostró diferencia significativas ($P < 0.05$) al extracto diclorometánico de tallo ($79.5 \pm 5.1\%$) y al hexánico de tallo ($66.2 \pm 5.1\%$) (Tabla 3).

Tabla 3. Medias de mínimos cuadrados para mortalidad de larvas (L₃) y larvas (L₃) no migradas de *Strongyloides* gastrointestinales por efecto de diferentes extractos (40 mg ml⁻¹) y diferentes concentraciones de extracto diclorometánico de *Caesalpinia platyloba*

Extracto	Órgano vegetal	Expuestas*	Larvas (L ₃)		Extracto Diclorometánico		
			Migradas ^{&}	No migradas ^{&}	Concentración (mg ml ⁻¹)	Larvas no migradas ^{&} $\bar{X} \pm E.E.$	Pr > t
Hexánico	Tallo	21	33.7 ^a ±5.8	66.2 ^a ±5.1	5	67.6 ^a ±4.0	<.0001
					10	71.6 ^a ±4.0	<.0001
	Hoja	21	19.5 ^b ±5.8	80.4 ^b ±5.1	15	73.6 ^a ±4.0	<.0001
Dicloro- metánico	Tallo	21	20.4 ^b ±5.8	79.5 ^{bc} ±5.1	20	75.3 ^a ±4.0	<.0001
					25	79.4 ^a ±4.0	<.0001
	Hoja	21	7.7 ^c ±5.8	92.2 ^{bd} ±5.1	30	83.8 ^a ±4.0	<.0001
Metanólico	Tallo	21	16.2 ^b ±5.8	83.7 ^b ±5.1	Parámetro		Pr > t
					Estimador		
	Hoja	21	17.4 ^b ±5.8	82.5 ^b ±5.1	β ₀	66.360	<.0001
					β ₁	0.34609 [†]	0.7073
Blancos	21	88.3 ^d ±5.8	11.6 ^e ±5.1	β ₂	0.00742 [†]	07330	
DMSO				R ²	0.42		
Agua	21	88.2 ^d ±5.8	11.7 ^e ±5.1				

*=Incubados; &=Tasa (%); †= no significativo ($p > 0.05$)

Literales ^{a, b, c, d, e} indican diferencias ($p < 0.05$) dentro de columnas

Como se muestra en la Tabla 3, las diferentes concentraciones del extracto diclorometánico de *Caesalpinia platyloba*, a las que se expusieron las larvas cultivadas *in vitro*, no presentaron diferencias ($P > 0.05$) en cuanto a la tasa de larvas no migradas; es decir, no se observó incremento en la tasa de larvas no migradas conforme se incrementó en 5 mg ml⁻¹ la concentración del extracto: $67.6 \pm 4.0\%$ de larvas no migradas en la concentración de 5 mg ml⁻¹ y 83.8% bajo una concentración de 30 mg ml⁻¹; ambos promedios iguales ($P > 0.05$) entre sí. No obstante, el análisis Probit determinó que, la tasa de sobrevivencia de las larvas L₃ de *Strongyloides* gastrointestinales, expuestos a una concentración de 42.0 mg ml⁻¹ del extracto

diclorometánico de *Caesalpinia platyloba*, logra en el límite inferior una supervivencia del 0.6% y en el límite superior del 24.5% (Figura 2). Mientras que las larvas expuestas al extracto diclorometano a una concentración de 72 mg ml⁻¹ alcanzarían, en el límite inferior, una supervivencia del 0.0% y en el límite superior sería de 5.9% (Figura 2).

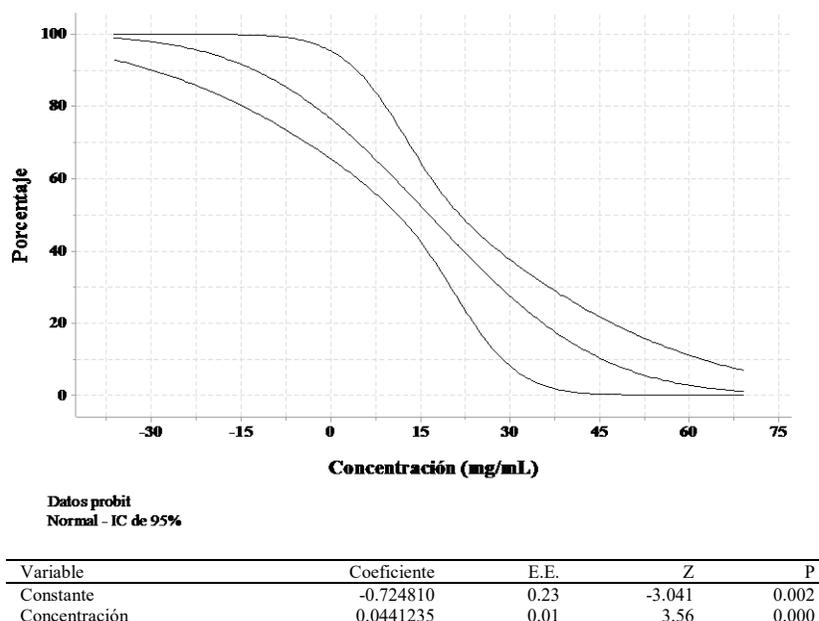


Figura 2. Supervivencia de larvas (L₃) bajo exposición de extracto diclorometánico de *Caesalpinia platyloba*

Discusión

Los desparasitantes de origen botánico destacan entre sus efectos, la inhibición del apareamiento y comunicación sexual, impedimento de la ovoposición, eclosión de huevos, esterilidad en adultos, bloqueo de los pasos de mudas para del desarrollo larvario y de esa manera completar el ciclo biológico, efecto anti-alimentario y bloqueo de la síntesis de quitina (Villamil *et al.*, 2012).

A pesar de que la presente investigación no especifica el metabolito secundario responsable del efecto antihelmíntico (AH), debido a la abundancia de compuestos presentes en extractos crudos de *Caesalpinia platyloba*, el proceso de maceración con disolventes de baja (0.0), media (3.1) y alta (5.1) polaridad brinda la oportunidad de realizar una previa separación, con

base en la naturaleza de los metabolitos secundarios, este proceso, permitió realizar una evaluación de manera individual de la actividad que estos compuestos (glicósidos, terpenos y compuestos fenólicos), ejercen sobre los nematodos gastrointestinales (Hernández-Alvarado *et al.*, 2017).

El valor máximo de extracción fue de 30.4%, en el extracto diclorometánico de hoja seca, y aunque al comparar los rendimientos reportados por Pamatz, (2010), los obtenidos en la presente investigación son inferiores, la concentración de 40 mg ml⁻¹ para evaluar fue similar a lo sugerido por Moreno *et al.* (2010), para esta especie arbórea, por lo anterior se sugiere que la *Caesalpinia platyloba* es una leguminosa rica en metabolitos secundarios, como lo refiere Soca, (2006), además, González *et al.* (2006) y López, (2015) previamente determinaron el contenido de taninos y fenoles (10.25 y 4.56 %/100 g de materia seca) respectivamente.

Los resultados de los bioensayos no muestran diferencias significativas entre la exposición de extractos diclorometánicos y metanólicos, son similares a estudios *in vitro* de extractos metanólicos de hojas de *Gliricidia sepium* los cuales inhibieron la eclosión de huevecillos en 55.96, 67.86 y 41.40% de manera significativa ($p < 0,001$), efecto dependiente de las concentraciones empleadas 50, 25 y 12.5 mg ml⁻¹, donde la actividad antihelmíntica, es causada por generar un puente entre dos moléculas polarmente opuestas, como lo refieren Puerto *et al.* (2014),

Además de que Pérez-Pérez *et al.* (2014), indicaron que las saponinas (glucósidos de triterpenoides) interaccionan con las moléculas presentes en la superficie de la membrana del huevecillo, causando reducción en la tensión superficial, por consiguiente se inhibe el proceso de eclosión de éste. Autores como Zapata *et al.* (2013), indican con el extracto de *Azadirachta indica* refieren disminución en el número de larvas que eclosionaron 55-80%, valores más altos a los obtenidos con la *Caesalpinia platyloba*.

De la misma forma, los taninos condensados extraídos con metanol (disolvente de alta polaridad), de especies arbóreas (Leguminosae), han demostrado afectar la integridad de la cutícula de los parásitos, mediante la unión a la prolina e hidroxiprolina lo cual altera sus propiedades físico-químicas (Athanasiadou *et al.*, 2000), la reacción que explica este fenómeno, se debe a que los grupos hidroxilo (OH⁻) de los compuestos fenólicos les confiere

reactividad para la formación de enlaces (puentes de hidrogeno), con el grupo carbonilo (-CO) de los péptidos moléculas precursores de proteínas (Ram, 2012).

También, debido a la amplia gama de actividades farmacológicas y su restringida distribución que poseen los compuestos terpénicos obtenidos de extractos diclorometánicos, han inspirado la búsqueda de metabolitos en plantas de la familia Fabaceae especialmente del género *Caesalpinia* (Maurya *et al.*, 2012), algunos como la azadiractina (tetranortriterpenoide), es referido como antihelmíntico, actividad que se presenta mediante la inhibición de la alimentación del parásito provocando muerte por inanición (Zúñiga, 2015), además este metabolito, inhibe la enzima que cataliza el último paso del proceso que convierte la ecdisona en hormona activa, misma que se encarga de controlar cambios en los estadios larvales (Villamil *et al.*, 2012), además de las lactonas sesquiterpénicas, presentan un mecanismo de toxicidad, que se basa en la capacidad alquilante, uniéndose a grupos nucleofílicos como los sulfidrilo y amino de las proteínas (Ramos *et al.*, 1998)

Autores como Medina *et al.* (2014), sugieren qué plantas pueden intervenir en funciones vitales de estadios larvarios de nematodos como la movilidad, la nutrición y posiblemente la reproducción, los compuestos alcaloides quinolizidínicos, inhiben la síntesis de proteínas y los receptores de acetilcolina, reduciendo la movilidad de helmintos (Sepúlveda *et al.*, 2003), de igual manera las lactonas provocan cambios en la membrana, lo cual corresponde a un fallo en la neurotransmisión, esto se debe a la acción que ejercen estos metabolitos sobre los canales de flujo de ión cloro (Cl⁻), de las células musculares lo cual provoca que queden indefinidamente abiertos, provocando que el nematodo se paralice y muera, para posteriormente ser expulsado (Guauque *et al.*, 2010).

Moreno *et al.* (2010), demostraron efectos de extractos de *Allocauarina torulosa*, en la prueba de inhibición de la migración larval, a una concentración de 15 mg ml⁻¹, indicando porcentajes para *H. placei* de 85% y para *Cooperia* sp de 78%, con *Callitris endlicherri* a una concentración de 30 mg ml⁻¹ sobre *T. colubriformis* de 78%, resultados similares a los obtenidos a la presente investigación implementando extractos de *Caesalpinia platyloba*.

El efecto directo sobre los *Strongyloides* gastrointestinales es atribuido a que los compuestos de alta polaridad (fenólicos), incrementan la cantidad de proteínas que llegan al intestino, esto

modifica el pH del medio (lumen intestinal), consecuentemente se altera el epitelio de la pared, afectando de algún modo al establecimiento larval (Otero e Hidalgo, 2004), resultados que concuerdan con lo reportado por Angulo-Cubillán *et al.* (2005), quienes afirman que alteraciones en las condiciones de temperatura, humedad y oxígeno, además, de variabilidad de las características fisicoquímicas del medio (pH, CO₂ y potencial oxido-reducción), interfieren con el ciclo de vida, frenando el desarrollo larvario de los nematodos.

Aunque, las pruebas de toxicidad mediante el análisis Probit difieren con los hallazgos de Mora, (2016), quien refiere concentraciones letales CL₅₀ relativamente bajas de la especie *Caesalpinia coriaria*, para la inhibición de la eclosión de *H. contortus* y *H. placei* a 3.98 y 11.68 (mg ml⁻¹), los resultados obtenidos pueden explicarse debido a que Mora, (2016), utilizó disolventes hidroalcohólicos para la extracción, atrayendo metabolitos altamente polares como lo referido por Moya y Escudero, (2015), en comparación con la presente investigación, donde se utilizaron diluciones del extracto diclorometano de hoja, donde se concentran componentes de media polaridad, cabe mencionar que las regresiones indican, que para la inhibición en la eclosión de huevecillos, la tasa se incrementará conforme se aumente la concentración y en el análisis de la migración larval no refiere diferencia estadísticas significativas en la tasa de inhibición conforme se disminuye la concentración de 30 o 5 mg ml⁻¹ son iguales.

Aunque, es probable que los efectos antiparasitarios no sean solo por algún metabolito secundario en particular, sino por la presencia combinada de ellos (Puerto *et al.*, 2014), los resultados sugieren que el forraje arbóreo posee metabolitos secundarios capaces de controlar el desarrollo de la población de *Strongyloides* gastrointestinales (Hernandez-Alvarado *et al.*, 2017), reduciendo la carga parasitaria por lo que se sugiere implementarlo como alternativa para el control de infestaciones parasitarias en el trópico seco (González *et al.*, 2006 y 2007; López, 2015).

Sin embargo, requiere de investigaciones de pruebas con compuestos purificados aislados de los extractos vegetales de especies arbóreas, digestibilidad de los extractos para evaluar la integridad de los metabolitos secundarios en su paso por el tracto digestivo y pruebas *in vivo* de la ingesta de forraje arbóreo endémico del trópico seco, con propiedades antihelmínticas, y su efecto sobre los *Strongyloides* característicos de dicha región

Conclusión

Las pruebas de inhibición de la eclosión de huevos y de migración larvaria que utilizan extractos de *Caesalpinia platyloba*, sobre *Strongyloides* gastrointestinales, han mostrado tasas altas de inhibición en la eclosión de huevecillos y reducen la motilidad de las larvas. Los componentes de los extractos evaluados muestran selectividad hacia huevecillos, propiedad de interés por la industria farmacéutica, debido a que los compuestos que poseen dicha propiedad no muestran efectos secundarios perjudiciales al organismo del hospedador, por lo que esta especie puede ser propuesta como alimento nutracéutico en el trópico seco.

Bibliografía

- Angulo-Cubillán FJ. 2005. Nematodosis Gastrointestinales. Manual de Ganadería Doble Propósito. Cátedra de Enfermedades Parasitarias, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad del Zulia. Maracaibo-Venezuela. Pp 377-383.
- Athanasiadou S, Kyriazakis I, Jackson F, Coop RL. 2000. Effects of short term exposure to condensed tannins on adult *Trichostrongylus colubriformis*. *Veterinary Record*; 146, 728-732.
- Balderas Pérez Jorge Francisco. 5 de octubre de 2005. Efecto de tres antihelmínticos en nematodos gastrointestinales de bovinos en el municipio de Carácuaro Michoacán. Tesis de licenciatura. FMVZ-UMSNH.
- Basabe J, Eiras DF, Romero JR. 2009. Nutrición y parasitismo gastrointestinal en producción de rumiantes. *Archivos de Zootecnia*; 58 (R): 131-144.
- Cruz CJV, Rosado VME, Dumonteil E. 2017. Desarrollo de vacunas contra parásitos. *Revista Ciencia*; 68(1): 81-85.
- Corona-Palazuelos M, Murillo-Ayala E, Castro-del Campo N, Romo-Rubio J, Cervantes-Pacheco B, Gaxiola-Camacho S, Barajas-Cruz R. 2016. Influencia de la adición de extractos de taninos al inicio de la engorda en la carga por nemátodos en becerros en corral. *Agrociencia*; 50 (8): 1013-1025.
- Cuéllar OJA. 2003. La resistencia a los antihelmínticos y métodos para reducir su presencia en los sistemas ovinos tropicales. Memorias del Segundo Seminario sobre Producción Intensiva de Ovinos. Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Villahermosa, Tabasco.
- Di Rienzo JA. 2010. Análisis de Regresión Probit. Facultad de Ciencias Agropecuarias Universidad Nacional de Córdoba.

- Encalada-Mena LA, López AME, Mendoza de GP, Liébano HE, Vázquez PV, Vera YG. 2008. Primer informe en México sobre la presencia de resistencia a ivermectina en bovinos infectados naturalmente con nematodos gastrointestinales. *Veterinaria México*; 39(4):423-428.
- Githiori JB, Athanasiadou S, Thamsborg SM. 2006. Use of plants in novel approaches for control of gastrointestinal helminthes in livestock with emphasis on small ruminants. *Veterinary Parasitology*; 139(4): 308-320.
- González JC, Ayala A, Gutiérrez VE. 2007. Composición química de especies arbóreas con potencial forrajero de la Región de Tierra Caliente, Michoacán, México. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*; 41(1): 87-93.
- González GJC, Madrigal SX, Ayala BA, Juárez CA, Gutiérrez VE. 2006. Especies arbóreas de uso múltiple para la ganadería en la Región de Tierra Caliente del Estado de Michoacán, México. *Livestock Research for Rural Development*; 18:109.
- Guauque M del P, Castaño JC, Gómez M. 2010. Detección de metabolitos secundarios en *Ambrosia peruviana* Willd y determinación de la actividad antibacteriana y antihelmíntica. *Asociación Colombiana de Infectología. Revista Infectio*; 14(3):186-194.
- Hernández-Alvarado J, Zaragoza-Bastida A, López-Rodríguez G, Peláez-Acero A, Olmedo-Juárez A, Rivero-Perez N. 2017. Actividad antibacteriana y sobre nematodos gastrointestinales de metabolitos secundarios vegetales: enfoque en medicina veterinaria. sisupe.org/revistasabanico. *Abanico Veterinario* ISSN 2448-613. <http://dx.doi.org/10.21929/abavet2018.81.1>
- Herrera J, Jordán H, Senra A F. 2010. Aspectos del manejo y alimentación de la reproductora ovina Pelibuey en Cuba. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*; 44(3):211-219.
- López CJT, Garduño RG, Torres HG, Gutiérrez CS, Gómez VV, Reyes MF. 2015. Efecto antihelmíntico *in vitro* de extractos vegetales en nematodos gastrointestinales de ovinos de pelo. *Producción Agropecuaria y Desarrollo Sostenible*; 4: 11-25.
- López HN. 2015. Clasificación taxonómica, valor nutricional y composición química de nuevas especies arbóreas en la Región de Tierra Caliente, Michoacán. [Tesis de Maestría]. Programa de Maestría en Producción Agropecuaria. Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

- Marie-Magdeleine C, Mahieu S D'A, L M, Philibert HA. 2010. *In vitro* effects of *Tabernaemontana citrifolia* extracts on *Haemonchus contortus*. *Research in Veterinary Science*; 89(1): 88-92.
- Márquez L D. 2008. Residuos químicos en alimentos de origen animal: problemas y desafíos para la inocuidad alimentaria en Colombia. *Corpoica*; 9(1). 124-135.
- Martínez O de MC, Arroyo-López C, Fourquaux I, Torres-Acosta JF de J, Sandoval-Castro CA, Hoste H. 2010. Scanning electron microscopy of *Haemonchus contortus* exposed to tannin-rich plants under *in vivo* and *in vitro* conditions. Artículo enviado a la revista *Parasitology International*. [Tesis de doctorado]. Institut National Polytechnique de Toulouse. Disponible en línea: <http://ethesis.inp-toulouse.fr/archive/00001490/>
- Maurya R, Ravi M, Singh S, Yadav P P. 2012. A review on cassane and norcassane diterpenes and their pharmacological studies. *Fitoterapia*; 83:272-280.
- Medina P, Guevara F, La O M, Ojeda N, Reyes E. 2014. Resistencia antihelmíntica en ovinos: una revisión de informes del sureste de México y alternativas disponibles para el control ed nemátodos gastrointestinales. *Pastos y Forrajes*; 37(3):257-263.
- Molina-Mercado VM, Gutiérrez-Vázquez E, Herrera-Camacho J, Gómez Ramos B, Ortiz-Rodríguez R, Santos Flores J. 2008. Caracterización y modelación gráfica de los sistemas de producción bovina en Tierra Caliente, Michoacán: 1. Bovinos productores de carne. *Livestock Research for Rural Development Colombia*, 20 (2):1-9.
- Mora EB. 2016. Actividad ovicida *in vitro* de dos extractos hidro-alcohólicos (hojas y frutos) de la leguminosa *Caesalpinia coriaria* contra huevos de nematodos gastrointestinales de rumiantes. [Tesis de Licenciatura]. Centro Universitario de Temascaltepec. Universidad Autónoma del Estado de México
- Morales G, Pino A. 1991. Métodos de control de los nematodos gastroentéricos de ovino y caprino. *Revista Mundial de Zootecnia*; 67(2):29-37.
- Moreno FC, Gordon IJ, Wright AD, Benvenuti MA, Saumell CA. 2010. Efecto antihelmíntico *in vitro* de extractos de plantas sobre larvas infectantes de nematodos gastrointestinales de rumiantes. *Archivos de Medicina Veterinaria*; 42(3):155-163.
- Moya MA y Escudero VG. 2015. Las plantas medicinales en el control de nemátodos gastrointestinales en cabras: potencial de las plantas que crecen en la región de Coquimbo, Chile. *Revista Brasileña de Plantas Medicinales*; 17(3): 480-494.

- Núñez-Domínguez R, Ramírez-Valverde R, Saavedra-Jiménez L A y García-Muñiz JG. 2106. La adaptabilidad de los recursos zoogenéticos Criollos, base para enfrentar los desafíos de la producción animal. Archivos de Zootecnia; 65(251): 461-468.
- Olivares PJ, Segura GI, Valencia AMT. 2006. Prevalencia de nematodos gastroentéricos en terneros predestete del trópico de Guerrero, México, durante la época lluviosa. Revista Electrónica de Veterinaria; VII(11):1-5 Veterinaria Organización Málaga, España. Disponible en línea: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63612653009>
- Otero MJ e Hidalgo LG. 2004. Taninos condensados en especies forrajeras de clima templado: efectos sobre la productividad de rumiantes afectados por parasitosis gastrointestinales. Livestock Research for Rural Development; 16, Art. #13.
- Pamatz BT. 2010. Actividad citotóxica de *Caesalpinia coraria* (Jacq) Willd y *C. platyloba* S.Watson. [Tesis de Maestría]. Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Facultad de Químico-Farmacobiología.
- Pérez-Pérez C, Hernández-Villegas MM, De la Cruz-Burelo P, Bolio-López GI, Hernández-Bolio GI. 2014. Efecto antihelmíntico *in vitro* del extracto metanólico de hojas de *Gliricidia sepium* contra nematodos gastrointestinales de ovinos. Tropical and Subtropical Agroecosystems; 17(1):105-111.
- Puerto Abreu M, Arece García J, López Leyva Y, Roche Y, Molina M, Sanavria AH, da Fonseca A. 2014. Efecto *in vitro* de extractos acuosos de *Moringa oleifera* y *Gliricidia sepium* en el desarrollo de las fases exógenas de strongílidos gastrointestinales de ovinos. Revista Salud Animal; 36(1):28-34.
- Ram LGR. 2012. Alimentación del venado cola blanca: Biología y Ecología Nutricional. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Nuevo León, México. Pagina 245. ISBN 978-1-4633-3617-2.
- Ramos GP, Frutos FJ, Giráldez y Mantecón AR. 1998. Los compuestos secundarios de las plantas en la nutrición de los herbívoros. Archivos de Zootecnia; 47:597-620.
- Rueda de AE, Ramis de da Silva C, Fraile-Vargas G, Triana-Alonso F. 2013. Citotoxicidad *in vitro* de extractos laticíferos de *Calotropis procera* (Aiton) W.T. Aiton y *Pedilanthus tithymaloides* (L.) Poit. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas; 12(5):476-492.
- Sagüés MF, Purslow P, Fernández S, Fusé L, Iglesias L, Saumell C. 2011. Hongos nematófagos utilizados para el control biológico de nemátodos gastrointestinales en el

- ganado y sus formas de administración. Revista Iberoamericana de Micología; 28(4):143–147.
- Schapiro J, Morici G, Di Ciaccio L, Salvat A, Fortunato R H, Caracostantogolo J. 2015. Actividad antihelmíntica de extractos vegetales. Memorias del V Congreso latinoamericano de agroecología; ISBN 978-950-34-1265-7.
- Sepúlveda JG, Porta DH, Rocha SM. 2003. La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. Revista Mexicana de Fitopatología; 21(3):355-363.
- Sinha SP. Diseño y Análisis de Experimentos. Instituto de Estadística Aplicada y Computación. Universidad de Los Andes Mérida, Venezuela. Consulta 6-03-2018: <http://webdelprofesor.ula.ve/economia/sinha/index.htm#beg>
- Soca M, Simón L, Roque E. 2007. Árboles y nemátodos gastrointestinales en bovinos jóvenes: Un nuevo enfoque de las investigaciones. Pastos y Forrajes; 30(Supl. 5): 1.
- Soca M, Roque E, Soca M. 2005. Epizootiología de los nemátodos gastrointestinales de los bovinos jóvenes. Pastos y Forrajes; 28(3):175-185.
- Torres-Acosta J, Alonso-Díaz M, Hoste H, Sandoval-Castro C, Aguilar-Caballero A. 2008. Efectos negativos y positivos del consumo de forrajes ricos en taninos en la producción de caprinos. Tropical and Subtropical Agroecosystems; 9(1): 83-90.
- Villamil MDA, Naranjo N, Van Strahlen MA. 2012. Efecto insecticida del extracto de semillas de neem (*Azadirachta indica* A. Juss) sobre *Collaria scenica* stal (*Hemiptera: Miridae*). Periódico electrónico Entomo Brasilis; 5 (2): 125-129.
- Zapata SR, González AC, Mosquera CLN, Usuga TIY, Polanco ED, Araque MP. 2013. *In vitro* anthelmintic activity of oily extracts of *Azadirachta indica* and aqueous extracts of *Nicotiana tabacum* on gastrointestinal nematodes in goats. Revista de Medicina Veterinaria; (26):25-36.
- Zúñiga NJM. 2015. Comprobación de la capacidad antiparasitaria del extracto de las hojas de neem (*Azadirachta indica* A. Juss) en ovinos. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Navarro. División Regional de Ciencia Animal. Torreón, Coahuila.

DISCUSIÓN

A pesar de que los cambios que ha sufrido el contexto en el que interactúan los componentes del sistema de producción animal, éste condiciona la inmutable evolución sobre la explotación extensiva de ganado en el trópico seco, por lo que la alimentación sigue basándose en el pastoreo (Molina-Mercado *et al.*, 2008), actividad que favorece la prevalencia de Nematodiasis gastroenterítica (Angulo-Cubillán, 2005), misma que afecta la productividad y rentabilidad (Almada, 2015), debido a las manifestaciones clínicas que ocasionan al hospedador (Steffan *et al.*, 2012),

El diagnóstico (Capítulo 1) permitió objetar el falso sentido de seguridad que los productores manifiestan hacia el uso de los antihelmínticos como método de control (FAO, 2003; Márquez y Jiménez, 2017), debido al incremento en la intensidad de infestación comparada con los resultados de hace 15 años (Navarro, 2002), además la evaluación del efecto que ejerce el sistemas de pastoreo sobre la carga parasitaria y prevalencia (Capítulo 1), indica que incluir forraje arbóreo mitiga de manera directa el parasitismo por *Strongyloides*, esto es reflejado en el cotejo de datos obtenidos de los muestreos y similar en otras investigaciones (Soca *et al.*, 2007; Colina *et al.*, 2013).

La prueba biológica *in vitro* de extractos de *Caesalpinia platyloba* en huevecillos y larvas sobre los *Strongyloides* recuperados (Capítulo 2), demostró el potencial antihelmíntico, debido a la baja tasa de eclosión de huevecillos a L₁ (Puerto *et al.*, 2014) y alto índice de lisis de la membrana en algunos casos (Pérez-Pérez *et al.*, 2014), además de mitigar la motilidad larval (Moreno *et al.*, 2010; Puerto *et al.*, 2014; Schapiro *et al.*, 2015), mostrando selectividad hacia los huevecillos conforme se disminuyó la concentración, y a pesar de que en esta investigación no queda completamente dilucidado el mecanismo de acción, la actividad antihelmíntica puede ser explicada por las reacciones químicas en la interacción *metabolito-parásito*,

Además de que es probable que los efectos no sean solo por algún metabolito en particular, sino por la presencia combinada de ellos (Puerto *et al.*, 2014), por lo anterior se sugiere que el forraje arbóreo posee metabolitos capaces de controlar el crecimiento y desarrollo de la población de *Strongyloides* gastrointestinales (Hernandez-Alvarado *et al.*, 2017), reduciendo

la carga parasitaria, por lo que se sugiere incluir forraje arbóreo (Roncallo, 2013), como alternativa nutracéutica (Rodríguez, 2011), para el manejo integrado de infestaciones parasitarias en el trópico seco (González *et al.*, 2006 y 2007; López, 2015).

A pesar de que no se logró purificar por completo, En el análisis químico por Resonancia Magnética Nuclear permitió proponer la estructura para el compuesto mayoritario de la planta, se conserva el esqueleto base de vouacapano propuesta por Gómez-Hurtado *et al.* (2013), pero variaron los grupos sustituyentes como lo proponen Taichi *et al.* (2014 y 2015) y Bello, (2016) las diferencias de los desplazamientos entre las señales obtenidas y las de referencia son causadas por el sustituyente, en el caso de la presente se propone al *p*-cumarato (Song *et al.*, 2011).

PERSPECTIVAS

A partir de los estudios y discusiones presentados en esta tesis, para trabajos futuros se propone evaluar el efecto *in vitro* de los extractos vegetales con potencial antiparasitario sobre la digestibilidad animal y realizar la comparación de los extractos con potencial antihelmíntico y sus derivados digeridos, con el fin de conocer si los metabolitos secundarios mantienen el efecto antiparasitario posterior al proceso digestivo, corroborar si los resultados *in vitro* presentan variaciones en estudios *in vivo*, además de realizar un estudio químico completo de la especie arbórea.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean expresar su agradecimiento al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada a Omar Gamiño Avalos para la realización de esta investigación.

BIBLIOGRAFÍA

- Alberti NAB. 2015. Principales estrategias de prevención de parasitosis en pequeños rumiantes. Departamento de Medicina y Zootecnia de Rumiantes. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. Consulta: congreso.fmvz.unam.mx/pdf/memorias/Pequeños%20rumiantes/ALDO.pdf
- Almada A. 2015. Parasitosis: pérdidas productivas e impacto económico. Sitio argentino de Producción Animal. Revista Veterinaria Argentina. Volumen XXXIV; N° 351.
- Almería S y Uriarte J. 1999. Papel de las heces bovinas como reservorio de las poblaciones larvares de nematodos gastrointestinales ante su migración al pasto. Producción Animal. 95a (3):209.
- Angulo-Cubillán FJ. 2005. Nematodosis Gastrointestinales. Manual de Ganadería Doble Propósito. Cátedra de Enfermedades Parasitarias, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad del Zulia. Maracaibo-Venezuela. Pp 377-383.
- Aparicio-Medina JM, Paredes-Vanegas V, González-López O, Navarro-Reyes O. 2011. Impacto de la ivermectina sobre el ambiente. Revista Científica; 11(17): 64-66.
- Athanasiadou S, Kyriazakis I, Jackson F, Coop RL. 2000. Effects of short term exposure to condensed tannins on adult *Trichostrongylus colubriformis*. Veterinary Record; 146, 728-732.
- Aumont G. 1998. Integrated control of gastrointestinal nematodes in ruminants in the humid tropics. Conferencia. Curso: Ruminant production at grazing in the humid tropics. Matanzas, Cuba.
- Ávalos GA y Pérez-Urria CE. 2009. Metabolismo secundario de plantas. Departamento de Biología Vegetal I (Fisiología Vegetal). Facultad de Biología. Universidad Complutense. Madrid. Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal; 2(3):119-145, ISSN: 1989-3620 119.
- Avello OE, A Silveira PE, Peña RFI, Camacho EMC, Arce GMA. 2006. Actividad antihelmíntica in vitro de extractos de *Azadirachta indica* A juss, *Momordica charantia* L. y *Chenopodium (Teloxys) ambrosioides* L. Weber. Revista Electrónica de Veterinaria; VII(11): 1-10.
- Balderas PJF. 2005. Efecto de tres antihelmínticos en nematodos gastrointestinales de bovinos en el municipio de Carácuaro Michoacán. [Tesis de Licenciatura] Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Morelia, Michoacán. México.
- Basabe J, Eiras DF, Romero JR. 2009. Nutrición y parasitismo gastrointestinal en producción de rumiantes. Archivos de Zootecnia; 58(R):131-144.

- Bellido MM, Escribano SM, Mesías DF, Rodríguez de LA, Pulido GF. 2001. Sistemas extensivos de producción animal. Archivos de Zootecnia; 50(192):465-489.
- Bello JE, del Río RE. 2016. Diterpenos de *Caesalpinia platyloba*. Tlamati Sabiduría; 7(2), Memorias 4. Encuentro de Jóvenes Investigadores.
- Benavides OEV. 1991. El control de los parásitos internos del ganado bovino. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria. Biblioteca Agropecuaria de Colombia: 137-147. <http://www.corpoica.org.co/bacdigital/contenidos/catalogo.asp?ca=19289>
- Campos RR. 2009. Diagnóstico y tratamiento de algunas enfermedades de los bovinos. Administración de medicamentos y recomendaciones sanitarias prácticas. Programa Salud Animal. Hermosillo, Sonora, México. Consulta: <http://simorg.geocyt.com/pdfs/SALUD-Y-CUIDADOS-DE-LOS-ANIMALES/Manejo%20Sanitario%20del%20hato%20ganadero.pdf>
- Carvajal Rojas L, Hata Uribe Y, Sierra Martínez N, Rueda Niño D. 2009. Análisis fitoquímico preliminar de hojas, tallos y semillas de cupatá (*Strychnos schultesiana* Krukoff). Revista Colombia Forestal; 12:161-170. Consulta: <http://www.scielo.org.co/pdf/cofo/v12n1/v12n1a11.pdf>
- Carrera CB, Gómez CMÁ, Schwentesius RR. 2014. La ganadería bovina de carne en México: Un recuento necesario después de la apertura comercial. Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. 1ª ed. Ciudad Juárez, Chihuahua, México.
- Caste JM. 2014. Mínimos cuadrados. WordPress.com. Consulta: <https://esimecuanalisisnumerico.wordpress.com/2014/05/05/minimos-cuadrados/>
- Castro-Hermida JA, González-Warleta M, Mezo M. 2008. Principales parasitosis en el ganado vacuno lechero: Pautas racionales de control. Laboratorio de parasitología, Departamento de producción animal Centro de Investigaciones Agrarias de Mabegondo-Xunta de Galicia. Consulta: <http://www.ciam.gal/pdf/Parasitologia.pdf>
- Challenger A, y Soberón J. 2008. Los ecosistemas terrestres en capital natural de México, Vol(I): Conocimiento actual de la biodiversidad. Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad, México, pp. 97. Consulta: http://www.biodiversidad.gob.mx/pais/pdf/CapNatMex/Vol%20I/I03_Losecosistemast.pdf
- Colina JC, Mendoza GA, Jara CA. 2013. Prevalencia e intensidad del parasitismo gastrointestinal por nematodos en bovinos, *Bos taurus*, del Distrito Pacanga (La Libertad, Perú). Revista de Ciencias Biológicas; 33(2): 76-83.
- Cruz CJV, Rosado VME, Dumonteil E. 2017. Desarrollo de vacunas contra parásitos. Revista Ciencia; 68(1): 81-85.
- Cruz-Reyes A y Camargo-Camargo B. 2001. Glosario de términos en Parasitología y Ciencias afines. 1ª ed. Plaza y Valdes. 347. ISBN: 9789688568781.

- Cruz ZA. 2006. Principales factores que afectan la prolificidad del ganado vacuno en Latinoamérica. *Revista Electrónica de Veterinaria*; VII(10):1.
- Dewick PM. 2009. *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach*, 3rd Edition. John Wiley & Sons, Ltd. ISBN: 978-0-470-74168-9.
- Díaz PD. 2008. Enfermedades del ganado bovino. Universidad Autónoma Agraria. Consulta: https://juanagro.files.wordpress.com/2010/08/enfermedades_del_ganado_bovino.pdf.
- Dobson RJ, Hosking BC, Besier RB, Love S, Larsen JWA, Rolfe PF, Bailey JN. 2011. Minimizing the development of anthelmintic resistance and optimizing the use of the novel anthelmintic monepantel, for the sustainable control of nematode parasites in Australian sheep grazing systems. *Australian Veterinary Journal*; 89(5):160-166.
- Duno de SR y Cetzal-Ix. 2016. Fabaceae (Leguminosae) en la Península de Yucatán, México. *Centro de Investigación Científica (Herbario)*; 8:111–116. ISSN: 2395-8790
- Eguale T, Tadesse D, Giday M. 2011. *In vitro* anthelmintic activity of crude extracts of five medicinal plants against egg-hatching and larval development of *Haemonchus contortus*. *Journal of Ethnopharmacology*; 137:108-113.
- Encalada-Mena L, Corbala-Bermejo JA, Vargas-Magaña JJ, García-Ramírez MJ, Uicab-Brito L, del Río-Rodríguez J. 2009. Prevalencia de nematodos gastroentéricos de becerros en sistemas de doble propósito del municipio de Escárcega, Campeche, México. *Agrociencia*; 43(6): 569-576.
- FAO Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. 2010. Manejo sanitario eficiente del ganado bovino: Principales enfermedades. Cartilla Básica No. 1. <http://www.fao.org/docrep/019/as497s/as497s.pdf>.
- FAO Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. 2003. Resistencia a los antiparasitarios. Dirección de Producción y Sanidad Animal. 157; p-59. <http://www.fao.org/3/a-y4813s.pdf>.
- Fernández-Figueroa A, Arieta-Román R, Graillet-Juárez E, Romero-Salas D, Romero-Figueroa M, Felipe-Ángel I. 2015. Prevalencia de nemátodos gastroentéricos en bovinos doble propósito en 10 ranchos de Hidalgotitlán Veracruz, México. *Abanico Veterinario*; 5(2):13-18.
- Ferris H. 2008. The nematode plant expert information system. A virtual encyclopedia on soil and plant nematodes. Comparison of morphology and DNA based classifications. Department of nematology, University of California.
- García-Prieto L, Osorio-Sarabia D, Lamothe-Argumedo M R. 2014. Biodiversidad de nematoda parásitos de vertebrados en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*; 85(1): 171–176.

- González JC, Madrigal X, Ayala A, Juárez A y Gutiérrez E. 2006. Especies arbóreas de uso múltiple para la ganadería en la Región de Tierra Caliente del Estado de Michoacán, México. *Livestock Research for Rural Development*; 18(8).
- González JC, Ayala A, Gutiérrez E. 2007. Composición química de especies arbóreas con potencial forrajero de la Región de Tierra Caliente, Michoacán, México. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*; 41(1):87-93.
- Gómez E. 2010. Técnicas del laboratorio en parasitología. Universidad de Murcia. Software abierto. Consulta:
<http://elygomez.aprenderapensar.net/files/2014/11/T%C3%A9cnicas-de-laboratorio-en-Parasitolog%C3%ADa-Nem%C3%A1todos.pdf>.
- Gómez-Hurtado MA, Álvarez-Esquivel FE, Rodríguez-García G, Martínez-Pacheco MM, Espinoza-Madrigal RM, Pamatz-Bolaños T, Salvador-Hernández JL, García-Gutiérrez HA, Cerda-García-Rojas CM, Joseph-Nathan P, del Río RE. 2013. Cassane diterpenes from *Caesalpinia platyloba*. *Phytochemistry*; 96:397-403.
- Guibbons ML, Dennis EJ, Mark TF, Jorgen HCM. 2016. Examen fecal para determinación de helmintos parásitos. Guía RVC/FAO para el diagnóstico parasitológico veterinario.
- Hernández-Alvarado J, Zaragoza-Bastida A, López-Rodríguez G, Peláez-Acero A, Olmedo-Juárez A, Rivero-Perez N. 2017. Actividad antibacteriana y sobre nematodos gastrointestinales de metabolitos secundarios vegetales: enfoque en Medicina Veterinaria. sisupe.org/revistasabanico. *Abanico Veterinario* ISSN 2448-613. <http://dx.doi.org/10.21929/abavet2018.81.1>.
- Herrera J, Jordán H, Senra AF. 2010. Aspectos del manejo y alimentación de la reproductora ovina Pelibuey en Cuba. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*; 44(3):211-219.
- Hoste H, Jackson F, Athanasiadou S, Thamsborg S, Hoskin SO. 2006. The effects of tannin rich plants on parasitic nematodes in ruminants. *Trends in Parasitology*; 22:253- 261.
- Huerta CC y Cruz RM. 2016. Hacia una ganadería sustentable y amigable con la biodiversidad. Estudio de Caso: Xico, Veracruz. Instituto de Ecología, Xalapa, Veracruz, México. Pp 191.
- Jiménez F, Muschler R, Kopsell. 2001. Funciones y aplicaciones de sistemas Agroforestales. Turrialba, CR, Centro Agronomico Tropical de Investigacion y Enseñanza. 227-230.
- Jiménez TJA. 2007. Diseño de sistemas de producción ganaderos sostenibles con base a los sistemas silvopastoriles (SSP) para mejorar la producción animal y lograr la sostenibilidad ambiental. [Tesis de maestría]. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. Turrialba, Costa Rica.
- Joseph-Nathan P, y Díaz Torres E. 1993. Elementos de Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno. Grupo Editorial Iberoamérica S.A. de C.V. ISBN 970-625-019-0. 2^{da} Ed.

- Junquera P. 2014. *Dictyocaulus* sp. Gusanos nematodos parásitos pulmonares del ganado bovino, ovino y caprino, y de caballos: biología, prevención y control. Parasitipedia.net: Consulta 24-10-2017: http://parasitipedia.net/index.php?option=com_content&view=article&id=169&Itemid=248
- López HN. 2015. Clasificación taxonómica, valor nutricional y composición química de nuevas especies arbóreas en la Región de Tierra Caliente, Michoacán. [Tesis de Maestría]. Programa de Maestría en Producción Agropecuaria. Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
- López AME, Mendoza de GP, Aguilar ML, Liébano HE. 2010. Buenas prácticas en el manejo de antihelmínticos para el control de parásitos en rumiantes. Folleto Técnico No. 8 1^{ra} Ed. ISBN: 978-607-425-477-8.
- López CJT, Garduño RG, Torres HG, Gutiérrez CS, Gómez VV, Reyes MF. 2015. Efecto antihelmíntico *in vitro* de extractos vegetales en nematodos gastrointestinales de ovinos de pelo. Producción Agropecuaria y Desarrollo Sostenible; 4: 11–25.
- López-González A y Ruiz-Soler M. 2011. Análisis de datos con el Modelo Lineal Generalizado. Una aplicación con R. Revista española de pedagogía; 248: 59-80.
- López LP, Romero J, Velásquez LE. 2008. Residuos de fármacos en alimentos de origen animal: Panorama actual en Colombia. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias; 21:121-135.
- López-Vigoa O, Sánchez-Santana T, Iglesias-Gómez JM, Lamela-López L, Soca-Pérez, M, Arece-García J, Milera-Rodríguez M de la C. 2017. Los sistemas silvopastoriles como alternativa para la producción animal sostenible en el contexto actual de la ganadería tropical. Pastos y Forrajes; 40(2):83-95.
- Lozano AM y Arias MD. 2008. Residuos de fármacos en alimentos de origen animal: panorama actual en Colombia. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias; 21(1):121-135.
- Magallón-Chávez O. 2016. Estudio Preliminar de analgesia del 6 β -acetoxivouacapano de *Caesalpinia platyloba*. [Tesis de licenciatura]. Facultad de Químico Farmacobiología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Michoacán, 58030 México. Facultad de Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, Puebla, 72570 México.
- Márquez LD y Jiménez PG. 2017. Epidemiología y control del parasitismo gastrointestinal en bovinos. Engormix [Artículos técnicos]. Consulta: <https://www.engormix.com/ganaderia-carne/articulos/epidemiologia-control-rasitis-gastrointestinal-t40644.htm>

- Márquez-Lara D. 2014. Control sostenible de los nematodos gastrointestinales en rumiantes. Corpoica. 1^{ra} ed. ISBN: 978-958-740-191-2.
- Martínez FAR y Cordero del CM. 2000. El parasitismo y otras asociaciones biológicas. Parásitos y hospedadores. Dialnet Parasitología Veterinaria; Pp 22-38. ISBN 84-486-0236-6
- Martínez LMC y Cano OA. 2009. Plantas medicinales con alcaloides en la provincia de Jaén. Boletín. Instituto de Estudios Giennenses. N° 200:125-163 ISSN: 0561-3590.
- Medina P, Guevara F, La OM, Ojeda N, Reyes E. 2014. Resistencia antihelmíntica en ovinos: una revisión de informes del sureste de México y alternativas disponibles para el control de nemátodos gastrointestinales. Pastos y Forrajes; 37(3):257-263.
- Mendoza Olivares D. 2014. Buenas Prácticas en la Preparación de muestras para RMN. Consulta:
<http://www.dcne.ugto.mx/Contenido/MaterialDidactico/amezquita/Analitica4/Buenas%20Practicas%20en%20RMN.pdf>.
- Molina-Mercado VM, Gutiérrez-Vázquez E, Herrera-Camacho J, Gómez-Ramos B, Ortiz-Rodríguez R, Santos Flores J. 2008. Caracterización y modelación gráfica de los sistemas de producción bovina en Tierra Caliente, Michoacán: 1. Bovinos productores de carne. Livestock Research for Rural Development Colombia, 20 (2):1-9.
- Montagnini F, Somarriba E, Murgueitio E, Fassola H, Eibl B. 2015. Sistemas Agroforestales. Funciones Productivas, Socioeconómicas y Ambientales. Serie técnica. Informe técnico 402. CATIE, Turrialba, Costa Rica. Editorial CIPAV, Cali, Colombia. Pp 454.
- Montagnini F y Finney C. 2011. Payments for Environmental Services in Latin America as a Tool for Restoration and Rural Development. *Ambio*.40(3):285-297.
- Moreno FC, Gordon IJ, Wright AD, Benvenuti MA, Saumell CA. 2010. Efecto antihelmíntico *in vitro* de extractos de plantas sobre larvas infectantes de nematodos gastrointestinales de rumiantes. *Archivos de Medicina Veterinaria*; 42:155-163.
- Moya MA y Escudero VG. 2015. Las plantas medicinales en el control de nemátodos gastrointestinales en cabras: potencial de las plantas que crecen en la región de Coquimbo, Chile. *Revista Brasileña de Plantas Medicinales*; 17(3):480-494.
- Nájera-Garduño A de L, Piedra-Matias R, Albarrán-Portillo B, García-Martínez A. 2016. Cambios en la ganadería doble propósito en el trópico seco del estado de México. *Agrociencia*; 50(6):701-710.
- Navas A. 2016. Sistemas silvopastoriles. Bogotá: Tropenbos Internacional Colombia y Fondo patrimonio natural. Consulta: <file:///C:/Users/OEM/Downloads/6-Sistemassilvopastoriles-low.pdf>
- Navarro LA. 2002. Estudio observacional de la parasitosis gastrointestinal en el ganado bovino de la región de Tierra Caliente, Michoacán. [Tesis de Licenciatura] Facultad de

- Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacán. México.
- Núñez-Domínguez R, Ramírez-Valverde R, Saavedra-Jiménez LA, García-Muñiz JG. 2016. La adaptabilidad de los recursos zoogenéticos Criollos, base para enfrentar los desafíos de la producción animal. Archivos de Zootecnia; 65(251):461-468.
- O'Connor LJ, Walkden-Brown SW, Kahn LP. 2006. Ecology of the free-living stage of major *Trichostrongylid* parasites of sheep. Parasitic Veterinary; 142:1-15.
- Olivares PJ, Segura IG, Valencia AM. 2006. Prevalencia de nematodos gastroentéricos en terneros predestete del trópico de Guerrero, México, durante la época lluviosa. Revista Electrónica de Veterinaria; VII(11):1-5.
- Ortiz PC. 2010. Prevalencia de huevos de helmintos en lodos, agua residual cruda y tratada, provenientes de un sistema de tratamiento de aguas residuales del municipio el Rosal, Cundinamarca. [Tesis de Maestría]. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias. Bogotá.
- Ortiz RR y Ortega GR. 2001. Importancia del factor humano en la productividad de los sistemas. Acontecer Porcino; IX (50):86-98.
- Otero MJ e Hidalgo LG. 2004. Taninos condensados en especies forrajeras de clima templado: efectos sobre la productividad de rumiantes afectados por parasitosis gastrointestinales (una revisión). Livestock Research for Rural Development; 16, Art.13.
- Pamatz B T. 2010. Actividad citotóxica de *Caesalpinia coraria* (Jacq) Willd y *C. platyloba* S.Watson. [Tesis de Maestría]. Instituto de Investigaciones Químico Biológicas, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Michoacán.
- Perpere A. 2015. Gastroenteritis parasitaria bovina: actualización técnica. Dirección de Programación Sanitaria. Dirección Nacional de Sanidad Animal. Consulta: <http://www.senasa.gob.ar/sites/default/files/gastro.pdf>.
- Pérez-Pérez C, Hernández-Villegas M, de la Cruz-Burelo P, Bolio-López G, Hernández-Bolio G. 2014. Efecto antihelmíntico *in vitro* del extracto metanólico de hojas de *Gliricidia sepium* contra nematodos gastrointestinales de ovinos. Tropical and Subtropical Agroecosystems; 17(1):105-111.
- Pérez-Tris J. 2009. La parasitología ecológica en la era de la genética molecular. Ecosistemas; 18(1):52-59.
- Piña-González R, Ortiz-Sánchez Y, Perdomo-Rivera R, Alvarez-Mompié S, Hernández-Ginarte M. 2015. Relación de las propiedades físico-químicas con la actividad farmacológica de *Zuedania guidonia* (guaguasi). Revista electronica Multimed Granma; 19(4).

- Puerto AM, Arece GJ, López LY, Roche Y, Molina M, Sanavria AH, da Fonseca A. 2014. Efecto *in vitro* de extractos acuosos de *Moringa oleifera* y *Gliricida sepium* en el desarrollo de las fases exógenas de strongílidos gastrointestinales de ovinos. *Revista Salud Animal*; 36(1):28-34.
- Quiroz RH, Figueroa CJA, López AME. 2011. Epidemiología de enfermedades parasitarias en animales domésticos. 1^{ra} Ed. Editorial Ampave. 477-504. ISBN: 978-607-00-4015-3.
- Quiroz H. 2002. Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos. Editorial Limusa. México. p-876.
- Roa Y. 2017. Características relevantes de la ganadería extensiva, sus pros y contras. *Agronomaster*. [Artículos técnicos]. Consulta: 9 May 2018. <http://agronomaster.com/ganaderia-extensiva/>
- Rodríguez I. 2011. Estrategias de alimentación para ganado bovino en las regiones tropicales. *Mundo Pecuario*; VII(3): 167-170.
- Rodríguez MCE, Reatiga YC, Gómez LDF. 2016. Efecto *in vitro* del extracto de *Lotus corniculatus* L sobre nemátodos gastrointestinales bovinos. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*; 21(2):145-156.
- Rodríguez-Vivas R, Grisi L, Pérez de León A, Silva Villela H, Torres-Acosta J, Fragoso Sánchez H, Romero-Salas D, Rosario-Cruz R, Saldierna F, García-Carrasco D. 2017. Potential economic impact assessment for cattle parasites in Mexico. Review. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*; 8(1): 61-74.
- Rodríguez-Vivas RI, Torres AJF, Ramírez CGT, Aguilar RJA, Aguilar CAJ, Ojeda CMM, Bolio GME. 2011. Manual técnico: Control de parásitos internos y externos que afectan al ganado bovino en Yucatán, México. UADY-CONACYT. Mérida, México.
- Roncallo FBA. 2013. Árboles y arbustos forrajeros alimento para bovinos en regiones tropicales secas Ecología con Asocebu. Consulta: <http://ecologiasocebu.blogspot.mx/2013/12/arboles-y-arbustos-forrajeros-alimento.html>
- Sagüés MF, Purslow P, Fernández S, Fusé L, Iglesias L, Saumell C. 2011. Hongos nematófagos utilizados para el control biológico de nematodos gastrointestinales en el ganado y sus formas de administración. *Revista Iberoamericana de Micología*. 28(4):143–147.
- Sepúlveda JG, Porta DH, Rocha SM. 2003. La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología*; 21(3): 355-363.
- Schapiro J, Morici G, Di Ciaccio L, Salvat A, Fortunato R H, Caracostantogolo J. 2015. Actividad antihelmíntica de extractos vegetales. *Memorias del V Congreso latinoamericano de agroecología*. ISBN 978-950-34-1265-7.

- Soca M, Simón L, Roque E. 2007. Árboles y nemátodos gastrointestinales en bovinos jóvenes: Un nuevo enfoque de las investigaciones. *Pastos y Forrajes*; 30(5): 1.
- Soca M. 2006. La agroforestería y taninos condensados, una estrategia para el control de las parasitosis de los pequeños rumiantes. XIII Congreso venezolano de producción animal. San Juan de los Morros.
- Soca M, Roque E, Soca M. 2005. Epizootiología de los nemátodos gastrointestinales de los bovinos jóvenes. *Pastos y Forrajes*; 28(3):175-185.
- Song K, An S, Boo Y. 2011. Comparison of the antimelanogenic effects of *P*-coumaric acid and its methyl ester and their skin permeabilities. *Journal of Dermatological Science*; 63(1):17-22
- Sosa REE, Pérez RD, Ortega RL, Zapata BG. 2004. Evaluación del potencial forrajero de árboles y arbustos tropicales para la alimentación de ovinos. *Técnica Pecuaria en México*; 42(2): 129-144.
- Steffan PE, Fiel CA, Ferreyra DA. 2012. Endoparasitosis más frecuentes de los rumiantes en sistemas pastoriles de producción: Aspectos básicos de consulta rápida. Instituto de Promoción de la carne vacuna Argentina. Consulta: <http://www.ipcva.com.ar/files/manualendoparasitosis2012.pdf>.
- Suárez-Domínguez H. 2008. Factores que afectan la eficiencia productiva del sistema de doble propósito en los trópicos mexicanos. Universidad Autónoma Chapingo. México Consulta: <https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:MY3nFaZ9KocJ:https://www.engormix.com/ganaderia-leche/articulos/factores-afectan-eficiencia-productiva-t40830.htm+%&cd=3&hl=es-419&ct=clnk&gl=mx>
- Sumano LS y Ocampo CL. 2006. *Farmacología veterinaria*. 3^{ra} Ed. McGraw-hill interamericana, México. 454-461.
- Taichi M, Risa I, Ken-ichiro H, Nobuyasu M, Haruo A, Hiroshi N. 2015. Cassane-type diterpenoids from *Caesalpinia echinata* (*Leguminosae*) and their NF- κ B signaling inhibition activities. *Phytochemistry*; 116:349–358.
- Taichi M, Risa I, Ken-ichiro H, Mitsuhsa S, Nobuyasu M, Hiroshi N. 2014. New cassane-type diterpenoids of *Caesalpinia echinata* (*Leguminosae*) exhibiting NF- κ B inhibitory activities. *Chemical Pharmaceutical Bull*; 62(3):267–273.
- Tavira BU. 2017. Actividad ovicida in vitro de dos extractos acuosos: de semilla y fruto de *Pithecellobium dulce* contra *Haemonchus contortus*. Universidad Autónoma del Estado de México [Tesis].
- Torres-Acosta JF de J, Alonso-Díaz MÁ, Hoste H, Sandoval-Castro CA, Aguilar-Caballero AJ. 2008. Efectos negativos y positivos del consumo de forrajes ricos en taninos en la producción de caprinos. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*; 9:83-90.

- Torres-Acosta JF, Villarroel-Álvarez MS, Rodríguez-Arévalo F, Gutiérrez-Segura I, Alonso-Díaz MA. 2003. Diagnóstico de nematodos gastrointestinales resistentes a bencimidazoles e imidazotiazoles en un rebaño caprino de Yucatán, México. *Revista Biomédica*; 14(2):75-81.
- Torres VP, Prada SGA, Márquez LD. 2007. Resistencia antihelmíntica en los nemátodos gastrointestinales del bovino. *Revista de Medicina Veterinaria*; 13:59-76.
- Vázquez PV, Flores CJ, Santiago VC, Herrera RD, Palacios FA, Liébano HE, Pelcastre OA. 2004. Frecuencia de nemátodos gastroentéricos en bovinos de tres áreas de clima subtropical húmedo de México. *Técnica Pecuaria en México*; 42(2):237-245.
- Vázquez VM. 2000. Agentes etiológicos y ciclos de vida de los nemátodos gastrointestinales. Memorias del 1^{er} curso internacional “Nuevas perspectivas en el diagnóstico y control de nemátodos gastrointestinales en pequeños rumiantes” (Eds. Torres F, Aguilar A y Ortega A). Yucatán, México. P-1.
- Villa-Méndez CI, Tena MJ, Tzintzun VD. 2008. Caracterización de los sistemas ganaderos en dos comunidades del municipio de Tuzantla de la región de Tierra Caliente, Michoacán. *Avances en Investigación Agropecuaria*; 12(2): 45-57.
- Villar CC. 2009. Efecto de los parasitismos sobre la reproducción bovina. [Artículos técnicos]. Engormix. Consulta: <https://www.engormix.com/ganaderia-carne/articulos/efecto-parasitismos-sobre-reproduccion-t28141.htm>.
- Wolstenholme AJ, Fairweather IP, Von Samson-Himmelstjerna I, Sangster NC. 2004. Drug resistance in veterinary helminthes. *Trends Parasitology*; 20:469-476.