

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

ESCUELA DE ESTUDIOS SUPERIORES DEL JICARERO

Actividad antihelmíntica de *Portulaca oleracea L.* contra huevos de *Haemonchus contortus*

TESIS PROFESIONAL POR ETAPAS
PARA OBTENER EL TITULO DE
LICENCIADO EN BIOLOGÍA
PRESENTA:

Yareli Paredes Mendoza

Director: Dr. Agustín Olmedo Juárez Codirector: Dr. David Osvaldo Salinas Sánchez

JOJUTLA, MORELOS

Junio, 2021



ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN	6
2. ANTECEDENTES	8
2.1 Impacto de la ganadería por los nematodos gastrointestinales	
2.2 Generalidades de <i>Haemonchus contortus</i>	
2.3 Taxonomía	9
2.4 Ciclo biológico	. 10
2.5 Tratamiento farmacológico contra las enfermedades gastrointestinales en ganado	. 11
2.6 Tratamiento alternativo contra las enfermedades gastrointestinales en ganado	.12
2.7 Resistencia de los nematodos a los fármacos antiparasitarios comerciales.	. 13
2.8 Plantas con actividad antihelmíntica	. 14
2.9 Metabolitos primarios y secundarios en la actividad biológica	. 15
2.10 El uso de metabolitos secundarios con actividad antihelmíntica	. 17
3. Portulaca oleracea	.18
3.1 Características de <i>Portulaca oleracea</i>	. 18
3.2 Clasificación taxonómica de <i>Portulaca oleracea</i>	. 18
3.3 Descripción de la planta	
3.5 Composición química de <i>Portulaca oleracea</i>	. 21
3.6 Actividad antihelmíntica de <i>Portulaca oleracea</i>	. 22
4. HIPÓTESIS	. 24
5. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	25
6. OBJETIVO GENERAL	. 26
6.1 OBJETIVOS PARTICULARES	. 26
7. MATERIALES Y MÉTODOS	. 27
7.1 Recolecta del material biológico	. 27
7.2 Preparación de los extractos	. 28
7.3 Ensayo de inhibición de la eclosión de huevos (IEH)	.30
7.4 Análisis estadístico	
9. DISCUSIÓN	.35
10. CONCLUSIÓN	.37
11. REFERENCIAS	
12 ANEXOS	44

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Rendimiento de los extractos del material vegetal con los	
disolventes de polaridad intermedia y alta	25
Cuadro 2. Resultados de la inhibición de la eclosión de huevos (%IEH) de	
Haemonchus contortus causados por tres extractos de Portulaca	32
oleracea	
Cuadro 3. Resultados de la evaluación fasciolicida del extracto seco frente a	34
miracidos	
Cuadro 4. Resultados de IEH de extracto acetónico donde se puede observar	
los controles como las concentraciones utilizadas	42

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Eventos en los cuales, los metabolitos secundarios se inducen dura la respuesta de defensa de las plantas	
Figura 2. Colecta de <i>Portulaca oleracea</i> donde se puede observar la forma las hojas y tallo	
Figura 3. Lugar de colecta de Portulaca oleracea	.23
Figura 4. Parcela del Municipio de Cuachichinola, Morelos	23
Figura 5. Proceso de secado de Portulaca oleracea	24
Figura 6. Portulaca oleracea colocada en maceración	24
Figura 7. Rotavapor BUCHI 205 para el proceso de destilación	25
Figura 8. Observación del extracto de Portulaca oleracea dentro del embudo)
	25
Figura 9. Manejo del ovino para la obtención del material fecal	26
Figura 10. Proceso de lavado de huevos	26
Figura 11. Obtención del material fecal con solución salina en tul Falcón	
Figura 12. Visualización de los huevos, se observan de color amarillo	27
Figura 13. Placa de micro-titulación con los extractos y sus controles	.27
Figura 14. Conteo de la presencia de larvas y huevos	.28
Figura 15. Presencia de larvas en los controles negativos	.28

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a todas las personas que hicieron posible esta investigación y que de alguna manera estuvieron conmigo en los momentos difíciles, al Dr. Agustín y al Dr. David por haber hecho posible el presente trabajo sobre todo el tiempo dedicado y la paciencia de antemano ¡muchas gracias! Al comité sinodal que, sin sus correcciones en esto, no hubiera sido posible, por esos consejos brindados y las palabras de aliento cuando fueron necesarias.

Estas palabras son para ustedes. A mis padres Olga Y Salvador, por todo su amor, comprensión y apoyo, pero sobre todo gracias infinitas por la paciencia que me han tenido. No tengo palabras para agradecerles las incontables veces que me brindaron su apoyo en todas las decisiones que he tomado a lo largo de mi vida, unas buenas, otras malas, otras locas. Gracias por darme la libertad de desenvolverme como una persona con una alegría radiante.

A mis hermanos Jonathan y Ángel G. por llenarme de alegría día tras día, por todos los consejos brindados, por compartir horas y horas de películas, animes, por las peleas, los gritos, pero por encima de todo por su apoyo incondicional A mis amigos Kenia, Salma, Natanael que bien no estuvieron conmigo en la carrera, fueron parte de muchas decisiones tomadas en mi trayecto profesional a los cuales estimo y amo mucho, gracias por todos aquellos momentos vividos y los que faltan

A mis compañeros del alma que estuvieron en cada proyecto, cada practica realizada Diana, Monse, Aníbal, Ariel, Dio, todos ustedes fueron parte de mi avance y en serio muchas gracias por todo lo que hicimos junto. Aquellos amigos, que se convierten en amigos de vida y aquellos que serán mis colegas, gracias por todo su apoyo y diversión.

1. INTRODUCCIÓN

La ganadería en México juega un papel importante en el sector económico ya que ocupa el séptimo lugar a nivel mundial en la producción de animales para consumo (SAGARPA, 2017).

La mayoría de los sistemas en México de producción de pequeños rumiantes es semi-extensivo y extensivo; en donde los animales se enfrentan a diversos agentes de tipo bacteriano y parasitario, que provocan enfermedades que impactan económicamente a la industria ganadera (Suárez, 2017). Las parasitosis en el ganado causadas por nematodos gastrointestinales (NGI), son consideradas una de las principales causas que impiden que los animales expresen su potencial zootécnico, además, de que los sistemas de producción de rumiantes utilizados en México permiten las condiciones apropiadas para que estos nematodos se alojen en las praderas y puedan infectar a sus hospederos. Un ejemplo es *Haemonchus contortus*, siendo uno de los principales nematodos responsables en disminuir la producción de los pequeños rumiantes (Herrera-Manzanilla et al, 2017). El uso inadecuado de los antiparasitarios, tales como ivermectina, moxidectina, abamectina y doramectina, ha desencadenado que los NGI sean capaces de tolerar las dosis terapéuticas, ocasionado un problema de resistencia antihelmíntica (Mondragón-Ancelmo et al, 2019). En las últimas dos décadas se ha reportado la actividad antihelmíntica de diversas plantas medicinales (Del Pilar Guauque et al, 2010; Pawa et al, 2011). Otros estudios con plantas han demostrado que extractos polares y de polaridad intermedia contiene compuestos fenólicos con actividad antihelmíntica (Salazar et al, 2007). Por lo que, diversos grupos de investigación se han dado a la tarea del uso de plantas ricas en metabolitos secundarios (Salazar et al, 2007; Alemán et al, 2011; Espinosa-Moreno et al, 2016). Tal es el caso de Portulaca oleracea L (Portulacaceae), comúnmente llamada verdolaga. Esta especie vegetal, exhibe una amplia gama de actividades biológicas, incluyendo antibacterial (Yang et al, 2002), analgésico y antiinflamatorio (Chan et al, 2000), y cicatrización de heridas (Rashed et al, 2003). En medicina tradicional la verdolaga, se utiliza como diurético, antifebril, antiséptico, antiespasmódico y vermífugo (Lee et al, 2015). De esta especie vegetal se han aislado siete flavonoides: kaempferol, miricetina, luteolina, apigenina, quercetina, genisteína y genistina (Xu, et al., 2006),

además, se ha detectado que contiene otros compuestos fenólicos (Arvizu-Espinoza, 2009). El objetivo del presente trabajo de investigación fue evaluar la actividad antihelmíntica de extractos con una polaridad baja, media y alta (hexano, acetona, metanol) de *P. oleracea* contra huevos de *H. contortus* en condiciones *in vitro*.

2. ANTECEDENTES

2.1 Impacto de la ganadería por los nematodos gastrointestinales

La ganadería de pequeños rumiantes es fundamental para los mexicanos ya que genera un importante ingreso económico donde el valor de la producción ganadera nacional, alcanzó un monto de 237 mil millones de pesos, a pesar de que los pequeños productores tienen un ganado de mejor calidad genética, las enfermedades parasitarias, afectan la productividad de los ovinos en pastoreo y es considerada como uno de los principales problemas que enfrentan estos organismos en todo el mundo (González et al, 2011).

Los pequeños rumiantes como los ovinos, debido a su particular forma de alimentarse en la pradera, lo que los hace propensos a que puedan ingerir larvas infectantes, siendo los animales jóvenes menores de un año los más sensibles a este tipo de parasitosis. Los riesgos de enfermar aumentan con el sobrepastoreo, alta carga animal por hectárea y la mala nutrición (Castillo, 2003).

Las parasitosis causadas por nematodos gastrointestinales en rumiantes representan un serio problema a nivel mundial afectando la productividad del hospedador causando reducciones en las tasas de crecimiento en animales jóvenes, bajas condiciones corporales, reducción de la fertilidad, aumento de susceptibilidad a enfermedades de diferentes orígenes e incremento en la mortalidad ocasionando pérdidas económicas muy importantes en la producción pecuaria (Moreno *et al.*, 2010, Felice, 2015).

2.2 Generalidades de Haemonchus contortus

Haemonchus contortus pertenece a la familia *Trichostrongylidae* son relativamente pequeños y delgados, los machos llegan a medir de 19 a 22 mm y tienen una bolsa copuladora muy desarrollada, las hembras miden 25 a 34 mm y poseen un pliegue vulvar prominente y la cola en punta. El estadio adulto tiene como hábitat el abomaso de ovejas y cabras, provocando una gastroenteritis verminosa del ganado. El nematodo *H. contortus*, se caracteriza por causar lesiones hemorrágicas en la mucosa del abomaso, provocando irritación, inflamación y anemia, ocasionando daño hepático, dando lugar a un cuadro de desnutrición en el animal, causando posteriormente la muerte (Carosio, 2019).

2.3 Taxonomía

Reino: Animalia.

Clase: Nematoda.

Phylum: Nematelmintos

Orden: Strongylida

Superfamilia: Trichostrongyloidea

Familia: Trichostrongylidae

Subfamilia: Haemonchinae

Género: Haemonchus

Especie: H. contortus

2.4 Ciclo biológico

Haemonchus contortus tiene un ciclo biológico directo, no utiliza hospederos intermediarios además de una fase exógena y otra endógena. En la fase exógena, los huevos de los nematodos salen junto con las heces al ambiente y dependiendo de determinadas condiciones ambientales, eclosiona a la larva uno (L1) entre 24 y 30 horas, para posteriormente evolucionar a larva dos (L2) en aproximadamente 2-3 días; estas, sufren una segunda muda para transformarse en larva tres (L3) o estadio infectante, donde no pueden alimentarse y dependen de las reservas energéticas para sobrevivir, la cual es una fase muy activa, sube a los tallos y hojas de los pastos que sirven de alimento a los animales y de ese modo los infestan (Selemon. 2018).

En la fase endógena la larva infectante muda en el rumen y en un período corto pasa al abomaso donde se transforma en larva cuatro (L4). Posteriormente dejan la mucosa y se alojan en el lumen abomasal para transformarse en larva cinco (L5) y después en parásitos adultos, hembras y machos. El desarrollo y la sobrevivencia de los estadios larvales en el pasto depende de las condiciones climáticas de la zona, entre los que se destacan las precipitaciones, la humedad relativa y la temperatura (Arece y Rodríguez, 2003).

2.5 Tratamiento farmacológico contra las enfermedades gastrointestinales en ganado

Existen antihelmínticos, los cuales los productores hacen uso de ellos para el tratamiento de las parasitosis internas de sus animales. El grupo de los bencimidazoles como el thiabendazol, albendazol, fenbendazol, mebendazol y ricobendazol, junto con los probencimidazoles como el febantel, actúan sobre los parásitos adultos, larvas y huevos. Los imidazotiazoles (tetramisol, levamisol y butamisol) y las tetrahidropirimidinas (Morantel y Pirantel), son eficaces principalmente contra formas adultas, siendo menos sobre larvas en desarrollo y sin presentar efecto sobre larvas hipobióticas. Las avermectinas (ivermectina, doramectina, abamectina y espiromectina) y milbemicinas (moxidectina) presentan efecto en la larva y el estadio adulto (Angulo-Cubillán, 2005). Los antihelmínticos deben ser seleccionados por su eficacia, seguridad, espectro de actividad, persistencia, fácil administración y su precio.

2.6 Tratamiento alternativo contra las enfermedades gastrointestinales en ganado

Entre los distintos organismos estudiados como posibles agentes de control biológico se encuentran artrópodos coprófagos, bacterias y hongos (Larsen, 1999).

Dentro de este grupo se encuentran los hifomicetos (conocidos como hongos nematófagos) capaces de atrapar y digerir las formas libres de los nematodos en el suelo. Estos hongos producen esporas de resistencia o tienen fases saprofíticas en ausencia de sus hospedadores. Entre otras características de este tipo de control, es que no son patógenos para los organismos que no son su blanco (Dedchiens, 1939)

Se encuentran alrededor de 200 especies de hongos nematófagos descritas; la mayoría pertenecen a los Deuteromycetes constituyendo un grupo heterogéneo y ubicuo, viviendo normalmente en forma saprofítica y ocupando diferentes nichos en el suelo, donde también pueden alimentarse de una amplia gama de nematodos de vida libre, ya sea como recurso principal o secundario (Nordbring y Stalhammer, 2006). Los hongos hematófagos se dividen en tres grupos: endoparásitos, ovicidas y depredadores. Donde tienen mecanismos de acción diversos que van desde la penetración al interior de los nematodos, algunos otros en la creación de un sistema miceliar extensivo en el medio y emplean como recurso nutritivo las fases de vida libre de estos parásitos, producción de material adhesivo o formación de anillos constrictores (Fernández-Jiménez, *et al.* 2019).

Otra de las alternativas que hay aparte del uso de antihelmínticos son el uso de agujas de cobre donde el óxido de cobre, este es administrado en cápsulas por vía oral del ganado que pasa a través del rumen y se aloja en los pliegues del abomaso, donde libera iones de cobre que ejercen un efecto antihelmíntico (Martínez, 2010).

Aguilar *et al.* (2011) encontraron que las agujas de óxido de cobre reducen las cargas de *H. contortus* entre un 75 y 90 %; pero el problema es que el ganado no vuelve a su peso normal por lo cual es una desventaja para un control. Asimismo, Galindo *et al* (2011). Comprobaron el efecto positivo de la aplicación de agujas de óxido de cobre en el control de NGI en ovinos, ya que hallaron una

reducción de hasta un 73 % en los parásitos adultos al realizar la inspección del abomaso post-sacrificio.

Diversos estudios, han demostrado que la acumulación de cobre en el hígado de los animales tratados, genera un riesgo en su salud, debido a la exposición por lo que el uso de este método alternativo ha sido limitado (Aguilar *et al*, 2011).

2.7 Resistencia de los nematodos a los fármacos antiparasitarios comerciales

Los antihelmínticos ya mencionados para el tratamiento de la infección por *H. contortus* han generado resistencia en el nematodo. Debido al mal manejo de los antihelmínticos, se ejerce una fuerte presión de selección de la población parásita, lo que causa la aparición de aislados resistentes; estas resistencias generan que los nuevos antihelmínticos no sean efectivos, por la falta de desarrollo de nuevos fármacos (Angulo-Cubillán, 2005). La resistencia puede ser evitada por las siguientes medidas: usar medicamentos efectivos, alternar bases activas diferentes en tratamientos sucesivos, cumplir las recomendaciones del fabricante, revisar los equipos de dosificación, dosificar de acuerdo al peso y aplicar el tratamiento en momentos oportunos, indicados por el conocimiento epidemiológico de estas parasitosis en los rebaños (Angulo-Cubillán, 2005).

2.8 Plantas con actividad antihelmíntica

En un estudio realizado por García y colaboradores (2019) evaluaron la actividad ovicida *in vitro* de un extracto hidroalcohólico (HA-E) de *Caesalpinia coriaria* (Jacq.) que pertenece a la familia *Fabaceae* contra los nematodos gastrointestinales (NGI) del ganado y encontraron qué los compuestos responsables de esta actividad ácido gálico y un compuesto no identificado. Estos compuestos mostraron una actividad ovicida cercana al 100% a una concentración de 1 mg / ml.

Zarza-Albarrán*et al* (2020) describen el aislamiento y la identificación química de los compuestos antihelmínticos de las vainas de *Acacia farnesiana* (L.) Willd. Pertenece a la familia *Fabaceae* contra los huevos y las larvas infecciosas del nematodo *Haemonchus contortus*. Lograron la identificación de naringenina 7-O- (6 "-galloilglucósido, grupo flavonol) como el compuesto responsable de la actividad antihelmíntica contra este importante nematodo parásito.

Barrabí *et al.* (2013). Realizaron una evaluación de la actividad antihelmíntica *in vitro* de extractos /acuosos de hojas y semillas de *Neem (Azadirachta indica, A. Juss)*, pertenece a la familia de *Meliaceae* en la eclosión de huevos y el desarrollo larvario de estrongílidos gastrointestinales.

Donde el extracto de semilla fue más efectivo pues en dosis de 500 mg/ml logró reducir la eclosión de huevecillos en un 99.1% sin diferencias significativas (p<0.01) con el albendazol y en un 88.8% el desarrollo de las larvas hacia L3, el extracto de hojas inhibió más de un 80% la eclosión de huevos e interfirió en el desarrollo de las larvas en más de un 70%.

Castillo et al. (2017). Realizaron un fraccionamiento del extracto hidroalcohólico de Acacia cochliacantha (Willd) y su efecto contra huevos del parásito nematodo Haemonchus contortus. En la prueba de IEH se observó que la actividad ovicida de la FAcEt, fue contundente en todas las concentraciones, inhibiendo la eclosión al 100 %. Mientras que en la FAq solo se alcanzó a obtener un 40% de IEH en su máxima concentración (50 mg/ ml). Por lo cual A. cochliacantha tiene propiedades nemáticidas y podría utilizarse en futuros experimentos para evaluarse bajo un modelo in vivo con ovinos experimentales y su posible validación en una prueba de campo.

2.9 Metabolitos primarios y secundarios en la actividad biológica

Las plantas destinan una cantidad significativa del carbono asimilado y de la energía a la síntesis de una gran cantidad de moléculas orgánicas que no parecen tener una función directa en procesos fotosintéticos, respiratorios, asimilación de nutrientes, transporte de solutos o síntesis de proteínas, carbohidratos o lípidos, de los cuales se les conoce como metabolitos secundarios (McDonald *et al.*, 2002)

Las plantas que reciben daño ya sea por las heridas y los ataques de insectos o microrganismos patógenos, como podrían ser bacterias o parásitos, al encontrar en estrés sintetizan enzimas que degradan la pared celular de microrganismos o que tienen la capacidad de inactivar toxinas de agentes microbianos (Figura 1).

Su composición y estructura de la pared celular vegetal pueden generar una barrera más rígida y menos digerible para insectos lo que las hace menos propensas a este tipo de agentes (Croteau *et al.*, 2000) todo esto debido a los metabolitos secundarios.

Los metabolitos secundarios (MS) son compuestos de bajo peso molecular, tienen una gran importancia ecológica, ya que estos participan en los procesos de adaptación de las plantas a su ambiente, una síntesis activa de MS se induce cuando las plantas son expuestas a condiciones adversas tales como: a) el consumo por herbívoros (artrópodos y vertebrados), b) el ataque por microrganismos: virus, bacterias y hongos, c) la competencia por el espacio de suelo, luz y los nutrientes entre las diferentes especies de plantas y d) la exposición a la luz solar u otros tipos de estrés abiótico (Jiménez *et al.*, 2003).

A un microrganismo patógeno o a insectos y vertebrados herbívoros, les resulta más difícil infectar o alimentarse de una población de plantas que contienen cantidades diferentes de metabolitos secundarios que de una población con una mezcla homogénea de MS (Castellanos y Espinoza-García, 1997).

La síntesis de MS depende de la etapa de desarrollo de la planta y sus niveles constitutivos sólo se incrementan como parte de la respuesta al estrés abiótico o biótico. Este aumento en los niveles de MS es importante para la supervivencia de las plantas, ya que su síntesis se deriva del metabolismo.

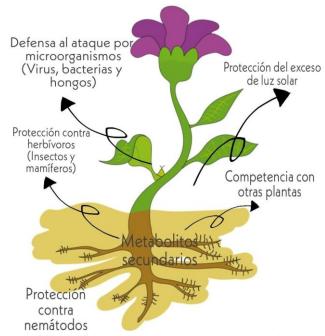


Figura 1. Metabolitos secundarios producidos por las especies vegetales para su protección (Jiménez, 2003).

La mezcla de metabolitos secundarios es única para cada especie, presentando variaciones a lo largo del año, ya que diversos factores, como radiación solar, edad, estado fenológico de la planta, nutrición, estrés hídrico, procedencia geográfica, precipitación, interacción con herbívoros, condiciones de recolección del vegetal interacciones bióticas entre otras, influyen para que genere mecanismos de adaptación entre ellos, que determinan la producción de MS.

2.10 El uso de metabolitos secundarios con actividad antihelmíntica

Las alternativas propuestas para el control de los nematodos gastrointestinales es el uso de plantas utilizadas en la herbolaria tradicional con efecto antihelmíntico. Los compuestos de estas plantas que tienen esta actividad son los terpenos, los alcaloides, las saponinas, las antraquinonas y los taninos. Aunque de acuerdo al análisis de los compuestos en diferentes plantas, los taninos son los que intervienen en funciones vitales de los nematodos afectando la movilidad, la nutrición y posiblemente en su reproducción (Medina *et al.*, 2014).

El uso de plantas ricas en metabolitos secundarios bioactivos y especialmente aquellas que contienen taninos, han recibido gran atención y han sido propuestas como método de control de nematodos gastrointestinales en ovinos y caprinos, por lo que es una alternativa bastante efectiva, por lo que se espera seguir explotando para generar medicamentos próximamente (Durmic *et al.*, 2012).

Existen reportes de que los taninos pueden mejorar la resiliencia (menos signos clínicos, mejor crecimiento y producción de lana) y resistencia (menor cantidad de huevos de nematodos en heces, menor carga parasitaria y menor fertilidad de hembras parásitas) de los caprinos y ovinos infectados con nematodos gastrointestinales (Torres *et al.*, 2008). Por lo que esta alternativa del uso de las plantas generado que se sigan plateando investigaciones, haciendo más efectivo el tratamiento a los pequeños rumiantes ante estas cargas parasitarias como lo es *H. contortus*.

3. ANTECEDENTES DE LA PLANTA A ESTUDIAR

3.1 Características de Portulaca oleracea

La familia *Portulacaceae* cuenta con 20 géneros con unas 400 especies de distribución mundial. Las especies que se reportan para México son: *P. mexicana Wilson, P. pilosa L., P. umbratícola Kunth, P. retusa Engelm. P. oleracea L.* y la recién descrita *P. guanajuatensis*.

Esta es una planta comestible que se distribuye en las regiones templadas y tropicales del mundo. Tiene un alto contenido en ácido oxálico, ácido linoléico (LA), alfa linoléico (ALA) y araquídico precursores de ácidos grasos omega 3, que muestran mayor presencia en las hojas (Guijun *et al.*, 2009; Omara-Alwala *et al.*, 1991). A pesar de que la verdolaga en Estados Unidos de Norteamérica es considerada como una maleza; en otros países, como México y algunos países del Este del Mediterráneo, es consumida como verdura en sopas y ensalada.

3.2 Clasificación taxonómica de Portulaca oleracea

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Caryophylales

Familia: Portulacaceae

Género: Portulaca

Especie: oleracea

Nombre científico:

Portulaca oleracea.

Nombre común: Verdolaga



Fig. 2: Colecta de *P. oleracea* donde se puede observar la forma de las hojas y tallo.

3.3 Descripción de la planta

Portulaca oleracea es una planta anual, herbácea, suculenta, con hábito de crecimiento decumbente o erecto, glabra o casi glabra, de 5 a 40 cm de largo. Presenta tallos cilíndricos a veces rojizos, ramificados, con las ramas extendidas radialmente. En los nudos de los tallos se pueden formar raíces adventicias, al estar en contacto con la superficie del suelo. Las hojas son alternas en ocasiones opuestas, obovado-cuneadas a espatuladas, de 0.5 a 3 cm de largo, por 0.2 a 1.5 cm de ancho, ápice redondeado o truncado, base cuneada. Las flores son actinomorfas amarillas sésiles, solitarias o agrupadas, con 5 pétalos de 3 a 5 mm de largo y se pueden presentar en grupos de 2 a 3. Los sépalos son ovados a orbiculares, de 2.5 a 4.5 mm de largo y de ancho, algo aquillados. Los frutos son cápsulas de 5 a 9 mm de largo. Las semillas negras, granular-tuberculadas, de casi 1 mm de ancho, son reniformes y mantienen su germinación de 8 a 10 años. Esta planta se reproduce por auto fertilización, las semillas se forman en una cápsula con una tapa que sólo se abre en condiciones soleadas de mayo a septiembre (Calderón de Rzedowski, 2001).

3.4 Distribución de Portulaca oleracea

Es una planta comestible que se distribuye en las regiones templadas y tropicales, en algunos países como Estados Unidos es considerada como maleza, en otros como México y algunos países del Este del Mediterráneo es consumida como verdura debido a la cantidad de ácido graso omega-3, de vitaminas y minerales dietarios (como magnesio, calcio, potasio y hierro) (SIAP. 2017).

Debido a su característica de arvense o maleza, la distribución de la verdolaga es muy amplia y se puede encontrar por todo el territorio nacional, esta planta se encuentra de forma natural al interior de las parcelas de cultivos, o bien, en áreas manejadas por el hombre, lo cual facilita la recolección de la planta en las épocas del año en que está disponible para consumo y venta. No obstante, en la zona centro del país existen pequeñas áreas de monocultivo. (Mera et al., 2010).

Se encuentra en territorio mexicano en Chiapas, Durango, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Estado de México, Michoacán, Morelos, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Querétaro, Quintana Roo, San Luís Potosí, Sinaloa, Tabasco, Tamaulipas, Tlaxcala, Veracruz, Yucatán, Zacatecas (Villaseñor y Espinosa, 1998).

3.5 Composición química de Portulaca oleracea

Algunos constituyentes químicos reportados en esta especie vegetal son flavonoides, alcaloides ácidos grasos, terpenoides, polisacáridos, vitaminas, esteroles, proteínas, minerales y compuestos fenólicos. De los siete flavonoides que se han aislado son el: Kaempferol en el cual se han realizado numerosos estudios preclínicos donde se observó que tienen una amplia gama de farmacológicas, incluyendo antioxidante. actividades antiinflamatorio, antimicrobiano, anticancerígeno, cardioprotector, neuroprotector, antidiabético, antiosteoporótica, estrogénica/antiestrogénica, ansiolítico, analgésico, y antialérgico. La miricetina es un compuesto químico natural, de composición igual que los polifenoles. Tiene propiedades antioxidantes, además sirve para el sistema inmune, regular el metabolismo de las grasas que interviene en la cantidad de colesterol, así como para proteger contra los radicales libres. La luteolina sirve para inhibir el daño de los radicales libres, prevenir la inflamación. Son muchas las causas por las que un órgano o parte de los tejidos que lo forman pueden enfermar. Apigenina en el cual se ha dado un interés científico al demostrarse en el laboratorio sus propiedades antimicrobianas cuando se combina polifenoles bacteriostáticos, anticancerígenas, con otros antiinflamatorias, radioprotectoras, cardiosaludables o protectoras de las paredes vasculares. Quercetina estudios de laboratorio en animales han observado varios de los efectos de los flavonoides que indican que éste podría ser efectivo para reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares. Genisteína y genistina (Xu, et al., 2006) Poseen la capacidad de promover la salud cardiovascular, reducen la concentración del colesterol LDL y promueven la flexibilidad de los vasos sanguíneos, acción sobre receptores estrogénicos, y antioxidante.

3.6 Actividad antihelmíntica de Portulaca oleracea

Actividad antihelmíntica comparativa de diferentes extractos de *P. oleracea L.* Realizado por Durgawale *et al* en 2017 donde se utilizó la planta completa utilizaron varios extractos de la planta para determinar su actividad antihelmíntica contra *Pheretima posthuma* (lombriz de tierra de la India), en la cual la actividad antihelmíntica del extracto acuoso fue seguida por los extractos etanólico, metanólico y butanólico. Exhibió una actividad antihelmíntica similar a la del mebendazol estándar con respecto al tiempo de parálisis a las concentraciones probadas.

Otro artículo describe la actividad antihelmíntica *in vitro* del PET - extracto de éter de *P. oleracea* (Linn) contra *P. posthuma de* Rao *et al* en 2013 donde se pudo determinar el porcentaje de rendimiento de extracto de éter de petróleo de *P. oleracea* en el cual se encontró que era 10.6% p / p. Las pruebas químicas indicaron la presencia de fitoconstituyentes como flavonoides, taninos, saponinas, terpenoides y alcaloides en el extracto de éter de petróleo, los resultados obtenidos fueron que el extracto mostro actividad antihelmíntica en forma dependiente de la dosis, donde el tiempo más corto requerido para la parálisis y la muerte se observó con una concentración de 100 mg / ml. El extracto de éter mostró un efecto máximo como $10,55 \pm 0,15$ min de tiempo de parálisis y $19,15 \pm 0,32$ min de tiempo de muerte. El albendazol estándar mostró la parálisis en $12,27 \pm 0,23$ min y muerte a $17,27 \pm 0,18$ min.

Los trabajos con *P. oleracea* como antihelmíntico en acción fasciolicida como en el realizado por Jiménez y colaboradores (2002), en el cual, se evaluó la actividad *in vitro* del extracto seco, obtenido a partir de la liofilización de un extracto acuoso, que exhibió metabolitos polares responsables de la actividad biológica, pudiendo ser los alcaloides, aminoácidos y saponinas presentes en la planta los potenciales antihelmínticos.

4. JUSTIFICACIÓN

La ganadería de pequeños rumiantes es fundamental para los mexicanos, debido a que muchas familias dependen de dicha actividad, aunado a que México es el séptimo lugar a nivel mundial en la producción de carne (SAGARPA, 2017). A pesar de que los pequeños productores tienen un ganado de mejor calidad genética, las enfermedades parasitarias, afectan la productividad de los ovinos en pastoreo y es considerada como uno de los principales problemas que enfrentan estos organismos en todo el mundo (González et al., 2011). Los antihelmínticos de uso común como ivermectina, moxidectina, abamectina y doramectina para el tratamiento de la infección por *H. contortus* ha generado resistencia en el nematodo, por lo que se han buscado alternativas como el uso de extractos vegetales, los cuales han mostrado un mejor resultado (Moreno et al, 2010). En la literatura, se tienen registros de extractos de polaridad media y alta de Portulaca oleracea que contienen compuestos fenólicos los cuales han demostrado tener propiedades antihelmínticas. Por lo que en el presente trabajo de investigación se evaluó el efecto nematicida de P. oleracea como una alternativa para tratar la Haemoncosis

5. HIPÓTESIS

Los extractos de polaridad intermedia de *Portulaca oleracea* tienen actividad antihelmíntica contra huevos de *Haemonchus contortus*.

6. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Los extractos de polaridad intermedia y alta de *Portulaca oleracea*, tendrán actividad ovicida contra huevos de *Haemonchus contortus*?

7. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la actividad antihelmíntica de *Portulaca oleracea* contra huevos de *Haemonchus contortus*.

7.1 OBJETIVOS PARTICULARES

 Evaluar el efecto antihelmíntico de los extractos hexánico, acetónico y metanólico de *Portulaca oleracea* a diferentes concentraciones.

8. MATERIALES Y MÉTODOS

8.1 Recolecta del material biológico

Se colectaron partes aéreas de *Portulaca oleracea* (500 g) en el Municipio de Cuachichinola, Morelos, México en el mes de marzo del 2020, las coordenadas son 18°40'19"N 99°22'28W. La planta fue identificada por la Dra. Ofelia Sotelo Caro, y se dejó una muestra en el herbario del Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación (CIByC-UAEM), con un número de registro en trámite.



Fig 3. Lugar de colecta de Portulaca oleracea.



Fig 4. Parcela del Municipio de Cuachichinola, Morelos.

La recolecta de *P. oleracea* se encontró en una parcela de 9 hectáreas; esta se encuentra cerca del Rio Chalma, esta parcela se utiliza para el cultivo de maíz, frijol, caña, papa, sorgo entre otros que se ubica en el Municipio de Cuachichinola con una temperatura de 34°C.

Se utilizó la parte aérea del material vegetal que está conformado por tallos y hojas, las cuales fueron puestas en bolsas de papel con su etiqueta, posteriormente, se hizo una limpieza de la planta, para evitar que tuviera algún otro material vegetal externo.

8.2 Preparación de los extractos

La planta fresca se secó a la sombra, durante tres semanas a temperatura ambiente (Fig. 5)



Fig 5. Proceso de secado de P.oleracea.

Después el material vegetal (50.29 g) se trituró a un tamaño de 4-6 mm y se usaron frascos ámbar para colocar la planta, donde fue extraído por maceración primeramente con acetona y posteriormente con metanol a temperatura ambiente durante 72 horas, por triplicado.



Fig 6. Portulaca oleracea colocada en maceración.

Los 50.29 g de la planta seca fueron macerados con 500 mL de disolvente por separado. El extracto se filtró con la ayuda de un embudo y una gasa.

El disolvente fue eliminado totalmente por destilación a presión reducida en un rotavapor BUCHI 205 a una temperatura de 50°C.



Fig 7. Rotavapor BUCHI 205 para el proceso de destilación.

Se obtuvieron los extractos de la planta, los cuales después del matraz fueron colocados en un frasco previamente pesado y rotulado.



Fig 8. Observación del extracto de P. oleracea dentro del embudo.

Se obtuvo el rendimiento de los extractos secos y posteriormente, se colocaron en congelación.

8.3 Obtención de los rendimientos

Los rendimientos de cada extracto se calcularon a partir del material vegetal previamente secado (base seca), utilizando la siguiente fórmula:

Rendimiento (%)= [100-(gramos de planta-gramos de extracto)/gramos de planta)]

8.4 Ensayo de inhibición de la eclosión de huevos (IEH)

Se utilizó el procedimiento descrito por Olmedo-Juárez *et al.*, (2017). Se tomaron 80 gramos de muestra fecal directamente del recto de un ovino infectado de manera artificial con una cepa susceptible ivermectina de INIFAP-México. Las heces fueron depositadas y lavadas con solución salina a 400 g/mL, con la ayuda de dos tamices (75 y 37 µm).



Fig 9. Manejo del ovino para la obtención del material fecal.

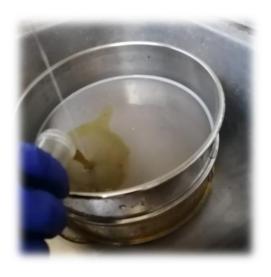


Fig 10 Proceso de lavado de huevos.

Los huevos se concentraron en el último tamiz, después se depositaron en tubos Falcón con solución salina al 40% (6 mL solución salina: 5mL de solución de huevos) esto con la finalidad de precipitar la materia fecal y los huevos floten por densidad.

Se eliminó la solución salina con lavados de agua destilada con tres repeticiones y finalmente los huevos se colectaron con ayuda de una pipeta, posteriormente se colocaron en tubo y se procedió a centrifugar.



Fig 11. Obtención del material fecal con solución salina en tubos Falcón.



Fig 12. Visualización de los huevos, se observan de color amarillo.

Se utilizaron placas de micro titulación de 96 pozos, con 12 repeticiones. Los tratamientos se realizaron a las siguientes concentraciones extracto (10, 5 y 2.5 mg/mL), se utilizó agua destilada, Tween20 (1%) y metanol al 2% como controles negativos y Tiabendazol (0.1 mg/mL) siendo el control positivo. A cada pozo se le depositó 50 μ L de una suspensión acuosa de 100±30 huevos y enseguida se le agregaron 50 μ L de cada tratamiento y sus controles correspondientes, quedando con un volumen final de 100 μ L.

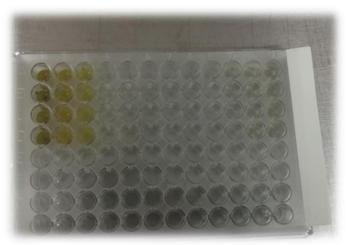


Fig 13. Placa de microtitulación con los extractos y sus controles.

Las placas se incubaron a temperatura del laboratorio 18–25°C durante 48 h, posteriormente se realizó la lectura total de cada pozo con la ayuda de un microscopio con un objetivo de 10x.

El porcentaje IEH se calculó mediante la siguiente fórmula: %IEH= [(número de huevos/ (número de larvas +número de huevos)]*100.

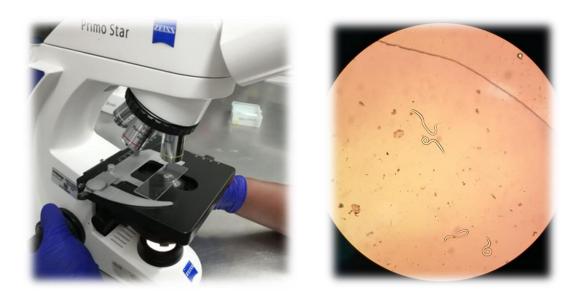


Fig 15. Presencia de larvas en los controles negativos.

8.5 Análisis estadístico

El porcentaje de inhibición de la eclosión de huevos (%IEH) se analizó mediante un análisis de varianza ANOVA (P<0,01) bajo un diseño completamente al azar. La prueba de Tukey se utilizó como una herramienta complementaria para determinar qué la comparación de medias entre tratamientos con un nivel de significancia de P< 0.05 (ver anexo 1).

9. RESULTADOS

En el cuadro 1 se observan los rendimientos correspondientes a los tres extractos de diferentes polaridades. De los cuales del que se obtuvo mayor rendimiento fue el metanólico, ya que fue de 11.94%, posteriormente el hexanánico y por último el acetónico.

Cuadro 1. Rendimiento de los extractos del material vegetal con los disolventes de polaridad intermedia y alta.

Disolvente	Rendimiento
Hexánico	1.8382%
Acetónico	1.4382%
Metanólico	11.94%

A continuación, en el cuadro 2 se muestran los resultados del %IEH de los tres extractos de la planta *P. oleracea*. El extracto metanólico exhibió el mejor efecto ovicida seguidos del extracto hexánico y acetónico, respectivamente. La actividad ovicida del extracto metanólico con la máxima concentración evaluada (10 mg/mL) fue cercana al 100%. Los huevos de *H. contortus* que estuvieron expuestos al Tiabendazol (control positivo) exhibieron un efecto inhibitorio de la eclosión de huevos del 100% a la concentración evaluada. Por otra parte, los controles negativos (agua destilada, metanol 2% y Tween20 1%), mostraron porcentajes de IEH por debajo del 5%.

Cuadro 2. Resultados de la inhibición de la eclosión de huevos (%IEH) de *Haemonchus contortus* causados por tres extractos de *Portulaca oleracea*

Promedio de					
Tratamientos	huevos y larvas recuperados		%IEH± d.e		
	recupe Huevos	Larvas			
Agua destilada	4.00	100.25	3.80±1.50 ^{def}		
Metanol 2%	1.5	108	1.35±1.70 ^{ef}		
Tween20 (1%)	8.5	103.25	7.75±2.78 ^{de}		
Tiabendazol (0.1 mg/mL)	89.25	0	100 ^a		
Extracto metanólico (E-Mt)					
mg/mL					
10.0	85.5	3	96.98±2. 84 ^a		
5.0	61.75	15	80.43±2.23°		
2.5	0.75	93.75	0.76±0.52 ^f		
Extracto acetónico (ExAct)					
mg/mL					
10.0	65.25	22.25	75.05±5.82 ^c		
5.0	8	91	8.03±2.45 ^d		
2.5	4.5	78.75	5.49±2.38 ^{def}		
Extracto hexánico (ExHex)					
mg/mL					
10.0	59.5	9	87.25±3.10 ^b		
5.0	88.25	2	97.83±1.16 ^a		
2.5	59.5	9	87.25±3.10 ^b		
Coeficiente de variación			5.317466		
R ²			0.997092		

Medias con distinta literal dentro de la misma columna indican diferencia significativa (P<0.05). d.e=desviación estándar.

10. DISCUSIÓN

Los resultados del presente estudio revelaron que extractos orgánicos (hexano, acetona y metanol) de las partes aéreas de la planta Portulaca oleracea, comúnmente conocida como verdolaga, poseen actividad ovicida a diferentes concentraciones contra huevos de H. contortus. Resultados similares fueron reportados por Narasimha Rao y colaboradores (2018) donde se utilizó una planta del mismo género (Portulaca quadrifida) en el cual se demostró que posee una actividad moderada contra Pheretima posthuma, las concentraciones más efectivas evaluadas fueron a los 50 y 100 mg/mL, donde el extracto produjo parálisis contra este nematodo, por lo que en ese estudio se usó etanol que tiene una polaridad alta al igual que la utilizada en este presente estudio en el caso de metanol que presenta actividad contra H. contortus. Por otra parte, en la literatura, se ha reportado evidente actividad antiparasitaria de *P. oleracea*. Por ejemplo, en un trabajo de investigación llevado a cabo por Durgawale et al. (2017), donde evaluaron un extracto a base de éter de petróleo (10,6% de rendimiento) contra *Trypanosoma cruzi* y *Leishmania amazonensis* a concentraciones de 100 µg/mL, donde se mostró que posee actividad antiparasitaria de manera dependiente a la concentración. Esos resultados son comparables con el extracto hexánico a la concentración de 10 mg/mL esto es debido a que el disolvente utilizado por Durgawale (éter de petróleo), tiene una polaridad baja parecida al hexano. Esos mismos autores, comentan que esta especie vegetal contiene muchos compuestos bioactivos tales como flavonoides, alcaloides, cumarinas, antraquinonas, catecolaminas, saponinas y taninos.

En otros trabajos de investigación con plantas del mismo género (*Portulaca werdermannii* y *Portulaca hirsutissima*), realizado por Costa *et al.* (2007), donde utilizaron extractos a base de acetato de etilo y cloroformo, los cuales se evaluaron contra *Leishmania amazonensis* y *Trypanosoma cruzi*; parásitos de importancia en salud pública y demostraron potente actividad antiparasitaria a concentraciones de 100 μg/mL, donde el número de parásitos se redujo significativamente en comparación con los controles con ausencia de extractos. Las dos muestras activas contra *L. amazonensis* tuvieron su efecto concentración para 50% calculado.

Por otro lado, Jiménez y colaboradores (2002), evaluaron la actividad fasciolicida *in vitro* de *Portulaca oleracea L* donde se sabe que las enfermedades parasitarias constituyen una de las problemáticas que presentan la mayoría de los animales los países, causando daño tanto en el hombre como en los como resultado de estas parasitosis como múltiples trastornos fisiológicos y de grandes pérdidas económicas que van desde el hígado de los animales infestados hasta la disminución del peso. Se evaluaron 5 concentraciones diferentes de extracto seco de *P. oleracea L.* obtenidas a partir de una solución madre al 2% y se realizaron 8 réplicas de cada uno.

Esos estudios refuerzan los resultados encontrados en la presente investigación; lo cual indica que *P. oleracea* puede representar una opción viable como control natural de parásitos. No obstante, es necesario realizar estudios químicos para la identificación de los compuestos bioactivos presentes en *P. oleracea L.*

11. CONCLUSIÓN

Los extractos obtenidos de *P. oleracea* (hexánico, acetónico, metanólico) obtenidos a partir del material vegetal, poseen actividad antihelmíntica contra huevos de *H. contortus*.

Los extractos que tuvieron un mayor porcentaje de inhibición de huevos fueron el de hexano y metanol con un 97.83% a una concentración de 5 mg/mL y de 96.98% a 10 mg/mL, respectivamente. Por lo que este tipo de extractos podrían ser una importante alternativa para el control de la Hemoncosis ovina.

El uso de este tipo de plantas, puede ser una herramienta efectiva para combatir las nematodiasis de los rumiantes, pero aún falta realizar más estudios tanto fitoquímicos como farmacológicos, además de realizar evaluaciones *in vivo*. De este proyecto se desprende que *P. oleracea* tiene grandes oportunidades para utilizarse en un futuro como antihelmíntico.

12. REFERENCIAS

- Alemán, Y., Sánchez, L. M., Pérez, T., Rodríguez, Y., Olivares, J. L., Rodríguez, J. G. (2011). Actividad larvicida de extractos de *Rhizophora mangle L*. contra estrongílidos gastrointestinales de ovinos. *Revista de Salud Animal*, 33(2), 111-115.
- Aguilar, A. J.; Cámara, R.; Torres, J. F. y Sandoval, C. El control de los Rodríguez, J. G. (2011). Actividad larvicida de extractos de *Rhizophora* mangle L. contra estrongílidos gastrointestinales de ovinos. *Revista de* Salud Animal, 33(2), 111-115.
- Angulo- Cubillán, F. (2005). Nematodosis gastrointestinales. Manual de Ganadería Doble Propósito. C. González-Stagnaro, E. Soto-Belloso. (Eds). Maracaibo: Ediciones Astro-Data, SA.
- Arece J, Rodríguez JG, López O, Mahieu M (2013). Primer reporte de estrongílidos de ovinos resistentes a imidazotiazoles en Cuba. Rev. Salud Animal. 2004; 26(2):112-115.
- Arvizu-Espinosa, M. G. (2009). Identificación de metabolitos secundarios y evaluación de actividad antioxidante de extractos acuosos de *Portulaca* oleraceae, Chenopodium murale y Malva parviflora (Doctoral dissertation).
- Barrabí-Puerta, M., y Arece-García, J. (2013). Actividad antihelmíntica in vitro de extracto acuoso de hojas y semillas de Neem (*Azadirachta indica A*. Juss). I. Inhibición de la eclosión de huevos y del desarrollo larvario. *Revista de Salud Animal*, 35(2), 103-108.
- Calderón de Rzedowski, G. (2001). Portulaceae, In: Rzedowski, G. C. de, J. Rzedowski y colaboradores. 2001. Flora fanerogámica del Valle de México. 2ª. ed., Instituto de Ecología, A.C. y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Pátzcuaro (Michoacán). 1406 pp.
- Castellanos, I., and Espinosa-García, F.J. (1997). Plant secondary metabolite diversity as a resistance trait against insects: a test with Sitophilus granarius (Coleoptera: Curculionidae) and seed secondary metabolites. Biochemical Systematics and Ecology 25:591-602

- Castillo, M. (2003). Estudio epidemiológico del parasitismo gastrointestinal en caprinos lecheros en comuna de Purranque, Décima Región de Los lagos, Chile: Periodo otoño-invierno.
- Chan, K., Islam, M.W., Kamil, M., Radhakrishnan, R., Zakaria, M.N.M., Habibullah M., Attas, A., (2000). The analgesic and anti-inflammatory effects of *Portulaca oleracea L*. subsp. sativa (Haw.) Celak. J. Ethnopharmacol. 73 (3), 445–451.
- Carosio, A. (2019). Estudio comparativo del comportamiento biológico de aislamientos de *Haemonchus contortus* resistente y susceptible a los antihelmínticos en corderos infectados experimentalmente (Doctoral dissertation, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata).
- Croteau, R., Kutchan, T.M., and Lewis, N.G. (2000). Natural products (Secondary metabolites). pp. 1250-1318. In: B. Buchanan., W. Gruissem., and R. Jones R. (Eds). Biochemistry and Molecular Biology of Plants. Vol. 24. American Society of Plant Physiologists. Maryland, USA. 1367 p.
- **Del Pilar Guauque**, M., Castaño, J. C., y Gómez, M. **(2010).** Detección de metabolitos secundarios en *Ambrosia peruviana Willd* y determinación de la actividad antibacteriana y antihelmíntica. *Infection*, *14*(3), 186-194.
- **Deschiens R**. Innocuité des Hyphomycètes prédateurs de nématodes pour la végétation des paturages et pour le bétail. Comp Rend Séan Soc Biol. **(1939)**; 135:830–2.
- Díaz, G. J., Hernández, G. T., Zamilpa, A., Pérez, C. M. B., Bribiesca, J. E. R., Mendo, O. H.,... & de Gives, P. M. (2017). In vitro assessment of Argemone mexicana, Taraxacum officinale, Ruta chalepensis and Tagetes filifolia against Haemonchus contortus nematode eggs and infective (L3) larvae. *Microbial pathogenesis*, 109, 162-168.
- Durgawale, T. P., Khanwelkar, C. C., Durgawale, P. P., y Kakade, S. V. (2017).
 Comparative Anthelmintic Activity of Different Extracts of Portulaca
 Oleraceae L. Whole Plant. Biomedical and Pharmacology
 Journal, 10(4), 2013.

- **Durmic Z** and Blache D. **(2012)**. Bioactive plants and plant products: Effects on animal function, health and welfare. **Animal Feed Science** and Technology. 176:150-162. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2012.07.018.
- Espinosa-Moreno, J., Centurión-Hidalgo, D., Pérez-Castañeda, E., Zaragoza-Vera, C. V., Martínez-Martínez, S., Mendoza-de-Gives, P., y González-Cortázar, M. (2016). Actividad antihelmíntica in vitro de tres especies vegetales utilizadas tradicionalmente en Tabasco, México. *Polibotánica*, (41), 91-100.
- **Felice M. (2015).** Control parasitario en rumiantes menores. Sitio argentino de Producción Animal. EEA Alto Valle. INTA Ediciones.
- **Fernández-Jiménez**, M. A., Bulla-Castañeda, D. M., Sanabria-Villate, A. M., & Pulido-Medellín, M. O. **(2019)**. Implementación de hongos nematófagos para el control de parásitos gastrointestinales. *Pensamiento y Acción*, (27), 7-20.
- Galindo, A. J.; Torres, J. F. J.; Cámara, R.; Sandoval, C. A.; Aguilar, A. J.; Ojeda, N. F. et al. (2011) Persistence of the efficacy of copper oxide wire particles against. Haemonchus contortus in sheep. Vet. Parasitol. 176 (2-3):201-207.
- García, A. Á., y Carril, E. P. U. (2011). Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (biología)*, 2(3).
- García-Hernández, C., Rojo-Rubio, R., Olmedo-Juárez, A., Zamilpa, A., de Gives, P. M., Antonio-Romo, I. A., and González-Cortazar, M. (2019). Galloyl derivatives from *Caesalpinia coriaria* exhibit in vitro ovicidal activity against cattle gastrointestinal parasitic nematodes. *Experimental parasitology*, 200, 16-23.
- Guijun, Y., N. Aryamanesh., S. Wang. (2009). Purslane- A Potential Vegetable Crop. Rural Industries Research and Development Corporation. Australian Government. 14 pp.
- González G.R, Córdova P.C, Torres H.G, Mendoza G.P, Arece G.J. (2011).
 Prevalencia de parásitos gastrointestinales en ovinos sacrificados en un rastro de Tabasco, México. Vet. Mex. 92: 126-126

- Herrera-Manzanilla, F. A., Ojeda-Robertos, N. F., González-Garduño, R., Cámara-Sarmiento, R., and Torres-Acosta, J. F. J. (2017). Gastrointestinal nematode populations with multiple anthelmintic resistance in sheep farms from the hot humid tropics of Mexico. Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports, 9, 29-33.
- Jiménez, G. S., Ducoing, H. P., y Sosa, M. R. (2003). La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. Revista mexicana de fitopatología, 21(3), 355-363.
- Jiménez, M. R., Manso, E. O., Martínez, Y., Serrano, H., y Monteagudo, A. (2002). Actividad fasciolicida in vitro de *Portulaca oleracea* L. *Acta Farm. Bonaerense*, 21(4), 297-300.
- Larsen M. Biological control of helmintos. Int J Parasitol. (1999); 29:139–46.
- **Lee**, J. S. Kim, Y. J. Lee, D. G. Kang, and H. S. Lee, "Anti-TNF-α activity of Portulaca oleracea in vascular endothelial cells," **International Journal of Molecular Sciences**, vol. 13, no. 5, pp. 5628–5644, 2012.
- McDonald, P., R. A. Edwards, J. F. D. Greenhalgh y C. A. Morgan. (2002).

 Nutrición Animal. Acriba, S.A. España.
- **Martínez**, O. M. C. Mecanismo de acción de las plantas ricas en taninos sobre la población adulta de nemátodos gastrointestinales de pequeños rumiantes. **(2010)**. Tesis en cotutela presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias Agropecuarias. Francia: Université de Toulouse.
- **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.
- Mera O. L. M., D. Castro L., R. A. Bye B. y C. Villanueva V. (2010). Importancia de la verdolaga en México. Universidad Autónoma Chapingo. México. 28 p.
- Mireisy Barrabí -Puertal, Javier Arece-Garcíall. (2013). Actividad antihelmíntica in *vitro* de extracto acuoso de hojas y semillas de *Neem* (*Azadirachta indica A. Juss*). I. Inhibición de la eclosión de huevos y del desarrollo larvario. Rev. Salud Anim. Vol. 35 No. 2 103-108.

- Mondragón-Ancelmo J, Olmedo-Juárez A, Reyes-Guerrero D.E., Ramírez-Vargas G., Ariza-Román A.E., López-Arellano M.E., Mendoza de Gives P., Napolitano F., (2019). Detection of gastrointestinal nematode populations resistant to Albendazol and Ivermectin in sheep. *Animals*, 9 (775).
- Moreno FC, Gordon IJ, Wright AD, Benvenutti 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. DOI: 10.4067/S0301-732X2010000300006. [Links]
- Narasimha Rao, Y., Prasada Rao, M., Supriya, A., Indraja Krishna Naik, B., Anitha, G., Nagur Shareef, S., and Rajitha, U. (2018). Preliminary phytochemical analysis and anthelmintic activity of ethanolic extract of *Portulaca quadrifida* whole plant. International Journal of Current Research in Life Sciences, 7(06), 2173-2175.
- **Nordbring** HB, Stalhammer CM. **(1978)**. Capture of nematodes by Arthrobotrys oligospora, an electron microscope study; Canad J Bot. 56:1297–307.
- **Olmedo-Juárez** A, Rojo-Rubio R, *et al.* **(2017)**. *In vitro* larvicidal effect of a hydroalcoholic extract from *Acacia cochliacantha* leaf against ruminant parasitic nematodes. **Vet Res Commun** 41:227–232.
- Omara-Alwala, T. R., T. Mebrahtu, D. E. Prior and M. O. Ezekwe. (1991).
 Omega-three fatty acids in purslane (Portulaca oleracea) Journal of the American Oil Chemist's Society 68(3):198-199. [DOI: 10.1007/BF02657769]
- Pawa, RS, Jain, A., Sharma, P., Chaurasiya, PK y Singour, PK (2011). Estudios in vitro en Sida cordifolia Linn para propiedades antihelmínticas y antioxidantes. Medicina china, 2 (2), 47.

- Rashed, A.N., Afifi, F.U., Disi, A.M., (2003). Simple evaluation of the wound healing activity of a crude extract of Portulaca oleracea L. (growing in Jordan) in Mus musculus JVI-1. J. Ethnopharmacol. 88 (2–3), 131–136.
- **Rao, B. M.**, Naseeruddin, S. D., y Rao, N. J. **(2013)**. In-vitro anthelmintic activity of pet-ether extract of *Portulaca oleracea* Linn. against *Pheritima posthuma*. *Int J Applied Biol Pharm Technol*, *4*(1), 34-37.
- **SAGARPA**, GOBIERNO DE MEXICO **(2017)**. La ganadería en México. Disponible en línea: https://www.gob.mx/firco/articulos/la-ganaderia-en-mexico?idiom=es (acceso 01 abril de 2010).
- Salazar, W., Cárdenas, J., Núñez, M., Fernández, I., Villegas, L., Pacheco, L., and Untiveros, G. (2007). Estudio fitoquímico y de la actividad antihelmíntica de los extractos de Euphorbia huanchahana y Baccharis salicifolia. Revista de la Sociedad Química del Perú, 73(3), 150-157.
- **Selemon**, M. **(2018)**. Review on control of *Haemonchus contortus* in sheep and goat. *Journal of Veterinary Medicine and Research*.
- Servicio de Información, Agroalimentaria y Pesquera. **SIAP**. (**2017**). http://infosiap.siap.gob.mx/aagricola_siap_gb/ientidad/index.js.

 Consultado el 29 de mayo del 2017.
- **Suárez**, V. H. **(2017)**. Sistema de información geográfico en producción y sanidad ganadera.
- Torres-Acosta JF, Alonso DMÁ, Hoste H, Sandoval CCA, Aguilar CJ. (2008).
 Efectos negativos y positivos del consumo de forrajes ricos en taninos en la producción de caprinos. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 9:83 90. E-ISSN: 1870-0462.
- **Uriarte Abad**, J., and Valderrábano Núñez, J. **(2005)**. Control integrado de los parásitos gastrointestinales en sistemas de producción ovina.
- Villaseñor R., J. L. y F. J. Espinosa G., (1998). Catálogo de malezas de México. Universidad Nacional Autónoma de México. Consejo Nacional Consultivo Fitosanitario. Fondo de Cultura Económica. México, D.F.
- X. Xu, L. Yu, and G. Chen, (2006). "Determination of flavonoids in *Portulaca oleracea* L. by capillary electrophoresis with electrochemical detection,"

- Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, vol. 41, no. 2, pp. 493–499.
- X. J. Zhang, Y. B. Ji, Z. Y. Qu, J. C. Xia, and L. Wang, (2002). "Experimental studies on antibiotic functions of *Portulaca oleracea* L. *in vitro*," *Chinese Journal of Microecology*, vol. 14, no. 6, pp. 277–280.
- Zarza-Albarrán, M. A., Olmedo-Juárez, A., Rojo-Rubio, R., Mendoza-de Gives, P., González-Cortazar, M., Tapia-Maruri, D., and Zamilpa, A. (2020). Galloyl flavonoids from Acacia farnesiana pods possess potent anthelmintic activity against *Haemonchus contortus* eggs and infective larvae. *Journal of ethnopharmacology*, 249, 112402.
- Yang, Z., Zhang, D., Ren, J., Yang, M., and Li, S. (2012). Acetylcholinesterase inhibitory activity of the total alkaloid from traditional Chinese herbal medicine for treating Alzheimer's disease. *Medicinal Chemistry Research*, 21(6), 734-738.

13. ANEXOS

Cuadro 4. Resultados de IEH

				Huevo	Total
Tratamiento	Repetición	Concentración (mg/mL, %)	(6) Larva		
Tween	1	0.01	104	6	110
Tween	2	0.01	123	7	130
Tween	3	0.01	88	9	97
Tween	4	0.01	98	12	110
MeOH	1	2%	109	4	113
MeOH	2	2%	103	0	103
MeOH	3	2%	116	0	116
MeOH	4	2%	104	2	106
H2O	1	2%	93	2	95
H2O	2	2%	106	4	110
H2O	3	2%	98	6	104
H2O	4	2%	104	4	108
ExHex	1	10	5	46	51
ExHex	2	10	11	67	78
ExHex	3	10	13	66	79
ExHex	4	10	7	59	66
ExHex	1	5%	3	84	87
ExHex	2	5%	3	102	105
ExHex	3	5%	1	85	86
ExHex	4	5%	1	82	83
ExHex	1	2.05%	5	46	51
ExHex	2	2.05%	11	67	78
ExHex	3	2.05%	13	66	79
ExHex	4	2.05%	7	59	66
ExAce	1	10	15	64	79
ExAce	2	10	27	60	87
ExAce	3	10	16	60	76
ExAce	4	10	31	77	108
ExAce	1	5%	96	6	102
ExAce	2	5%	82	8	90
ExAce	3	5%	90	6	96
ExAce	4	5%	96	12	108

ExAce	1	2.05%	93	5	98
ExAce	2	2.05%	80	2	82
ExAce	3	2.05%	74	5	79
ExAce	4	2.05%	68	6	74
ExMet	1	10	1	83	84
ExMet	2	10	0	68	68
ExMet	3	10	5	89	94
ExMet	4	10	6	102	108
ExMet	1	5%	15	59	74
ExMet	2	5%	13	67	80
ExMet	3	5%	13	50	63
ExMet	4	5%	19	71	90
ExMet	1	2.05%	116	1	117
ExMet	2	2.05%	98	1	99
ExMet	3	2.05%	79	0	79
ExMet	4	2.05%	82	1	83
Tz	1	0.01%	0	84	84
Tz	2	0.01%	0	86	86
Tz	3	0.01%	0	78	78
Tz	4	0.01%	0	109	109

DIRECCIÓN DE ESTUDIOS SUPERIORES



Escuela de Estudios Superiores del Jicarero



Dirección

El Jicarero, Jojutla, Morelos, 16 de febrero del 2022.

DRA. DULCE MARÍA ARIAS ATAIDE DIRECTORA GENERAL DE SERVICIOS ESCOLARES PRESENTE.

En calidad de miembro de la comisión revisora, expreso la siguiente decisión:

Por este conducto comunico a Usted, que he revisado el documento que presenta la Pasante de Licenciado en Biología: C. YARELI PAREDES MENDOZA con el título del trabajo: Actividad antihelmíntica de *Portulaca oleracea L.* contra huevos de *Haemonchus contortus*



DR. LUIS JAVIER MENDOZA ESTRADA



Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

AGUSTÍN OLMEDO JUÁREZ | Fecha:2022-02-21 09:13:55 | Firmante

ip7Km9y+6CllQ0l436qR/Nlu5O/PlOJN/rbp9GoX47OaJj1A4h6dTBA9szQ+tTmaoZgrKKWPJchUF6Q/puOOqzFEjt21Oveb6WcS8vFGtfC7awg4WQlsfRO/WblBl8uC/D6vQbWBuoh4wZPFwOQhuvS5RXQle3SolM8RBsjY55HiL3y6j6lhkGJoBCo95DsbuL5YWsHjHY1gXlxDUicYuYmlZrXxk+eDlTX+7zLv3KQUQpXZR1UjaUSLWm9V2NK2THcJF/TmLgh4EE5F2iYwJ5V5bz5u6BVuXGu9beAjFdObRsFNfrUWCy3+3+ge545lHXY5e7QypShbimVQG1cgpA==

HUMBERTO FLORES BUSTAMANTE | Fecha:2022-02-21 11:52:33 | Firmante

nqLAfZiQXydMhqP035bS0O3eFdWBK0T+bNFXKjNHOv4VljZWrgY1iVh/ncEfm6U79clHAqi8NYVwxkMctcicHHRvrnbHYcwUOGep8YR2liYRJmWcKRGI+4wY6biahods1aOQBm kkYzb+Q1c9fbLwLWABlsa7aLK4YBCWLhqDKY2pCvfF66TE/87DTiZaezWP0knRWldwRZMdLaEs3ZlnY0r7/0Gffw33Jw0iveZzKJYGQxjddnUB8E0JCBlTdNJ8ovVgYt330wD4lDS 6UnEx5yA+dhvScQYXvurlmX1lqQXFq/HrCeLkuLaRzYXGvZvAPMfsQ362zMLolayapf6nVg==

LUIS JAVIER MENDOZA ESTRADA | Fecha:2022-02-21 15:11:35 | Firmante

lwnm+8nd2klhnDOs5oizml6CW0EAvQf/r0C7pKMQBGZgTluxLnN9RtlFywGjOE1AlihtGl0LROV7yYIFkNbTDY+BNjHOv7UJX8VWN66fd9BlxRD6g55SCdrOxI5HXJ+MeBnO+Eym rullVPHAgzwTVG6yJ2sN2Uc/lwLlr0GCC+TfbnTLoeaDGskSuPHLgNMDmbtVOkESo8mfVjlem4t20VL3fSGNRQ7dlCPKlqZJ3yh4vEg4mXVflL8WluDoHxnO+CzvNJQeg2oA/Seq5 60ClRWBmMuemuOWW4mX+t+lQJIvsdlyObFGef+XkCVzukzjJSOXM0NVSpOFnkUCY12rSQ==

OFELIA SOTELO CARO | Fecha: 2022-02-21 17:54:31 | Firmante

 $iX/+ZfrDSooa0yKkDF1HHSaGpERIw3eB7OIAFdPy9rxI1A0xCuYXFELxownGBIOInhCf08V40F0js6hq2+iD/AOKGrs3T9ZeHuJI4yQvyZPO24z/iwvRKaWfeY/Iw5rMbbp8gO6ypW6\\8Ok+DFSrzFqAJUOmHU+RVBEavD9OfsizyiuDx6OBSKCmgYw4kzhA51VowA0ynguvMrAveyLCqKA/wdw6GmTNt97CeaiA3mGu8vorMotzY5XUoRVUQWEfbDNtrM0VEamGVoEQqCFjXWf6Wtl84ubpyvzeQYkzCXiDsJLA5KoYw0tsvMyxR7S1HYqq3ZqN0uzoMHWrS+5Ws+q==$

CESAR SOTELO LEYVA | Fecha:2022-02-24 11:31:10 | Firmante

pCNvX59KQf8GBa9Nd9OycQL0HFDxDKxiMS1SI+xPZAiyqYjNCPXBIdN9xxZF4iRU3/CCwMLi+n8/sg7ufVWEYTfeWmHmzfLdRiDqmF7KZYTxete5REGay/JiRxsaF8iY/UVdNk8G5Xxlua1NGLn0WoAnOq195g4FdVEe5XiNZCuOUdMz9Sj69FJyp8x9r08tTQf7g6xJTJtlGvixfM4kDGkKZJmQbyy8fpmPhWL2wL/ynYd+hQL6QzWU6rHWp+MjQ29H1vW+xzc0UiTSP7Fs/Fw2EgSymkPzvQ2kWFbSLLi6tx2DmSh1/gW7p3C4qFRHTDIQrbDdTYXuT746cDzncg==



Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:

a6lycYi4q

https://efirma.uaem.mx/noRepudio/KGrHabfXYpULQoIYHXOACBqZ7Go3WzXJ

