



Abanico Veterinario. Enero-Diciembre 2022; 12:1-12. <http://dx.doi.org/10.21929/abavet2022.8>
Artículo Original. Recibido: 11/08/2021. Aceptado:21/02/2022. Publicado: 11/04/2022. Clave: e2021-54.
<https://www.youtube.com/watch?v=g-ekT8gsuhk>

Efecto del extracto hidroalcohólico de hojas de *Leucaena leucocephala* sobre la eclosión de *Haemonchus contortus in vitro*

Effect of *Leucaena leucocephala* leaves hydroalcoholic extract over the hatching of *Haemonchus contortus in vitro*

López-Rodríguez Gabino¹ ID, Rivero-Perez Nallely^{1*} ID, Olmedo-Juárez Agustín² ID, Valladares-Carranza Benjamín³ ID, Rosenfeld-Miranda Carla⁴ ID, Hori-Oshima Sawako⁵ ID, Zaragoza-Bastida Adrian^{1**} ID

¹Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Instituto de Ciencias Agropecuarias, Área Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Hidalgo, México. ²Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad (CENID SAI-INIFAP), Carretera Federal Cuernavaca-Cuautla No. 8534/Col. Progreso, C.P. 62550, Jiutepec, Morelos, México, ³Universidad Autónoma del Estado de México, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. México. ⁴Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile, Isla Teja s/n, Casilla 567, Valdivia, Chile, ⁵Instituto de Investigaciones en Ciencias Veterinarias, Universidad Autónoma de Baja California, Mexicali, Baja California, México. *Autor responsable: Nallely Rivero-Perez. **Autor de correspondencia: Adrián Zaragoza-Bastida. Rancho Universitario Av. Universidad km. 1, Ex Hacienda de Aquetzalpa, Apartado Postal No. 32, Tulancingo de Bravo, Hidalgo, México. E-mail: lo281911@uaeh.edu.mx, nallely_rivero@uaeh.edu.mx, aolmedoj@gmail.com, benvac2010@hotmail.com, crosenfe@uach.cl, shori@uabc.edu.mx, adrian_zaragoza@uaeh.edu.mx.

RESUMEN

Haemonchus contortus (HC) es un nematodo gastrointestinal de importancia mundial debido a las pérdidas económicas que causa de forma directa e indirecta en la producción ovina. Los extractos de plantas ricos en metabolitos secundarios se han propuesto como un método alternativo de control de nematodos gastrointestinales en ovinos y caprinos, ya que cumplen con su función biológica y un acompañamiento ambiental sustentable. El objetivo del presente experimento fue determinar el efecto del extracto hidroalcohólico de hojas de *Leucaena leucocephala* (EHLL) sobre la eclosión de *Haemonchus contortus in vitro*. El extracto se obtuvo mediante la técnica de maceración y fue sometido a una caracterización fitoquímica cualitativa, en la cual se identificaron instauraciones, oxidrilos fenólicos, lactonas, flavonoles, florataninos, cumarinas, saponinas y compuestos aromáticos. Se evaluaron concentraciones de 100, 90, 80, 70, 60 y 50 mg/mL del extracto sobre la inhibición de la eclosión de huevo (IEH) de *Haemonchus contortus*. El extracto hidroalcohólico de *L. leucocephala* mostró 71% de IEH a 100 mg/mL, una CE₅₀ y CE₉₀ de 52.22 y 302 mg/mL respectivamente. El extracto hidroalcohólico de hojas de *Leucaena leucocephala* contiene compuestos bioactivos (fenólicos, terpenos y flavonoides) que inhiben la eclosión de huevos de HC con efecto dosis dependiente. Por lo tanto, el EHLL podría ser considerado como una alternativa de control sobre este nematodo, sin embargo, es necesario determinar el metabolito específico que confiere la actividad, determinar su toxicidad y realizar ensayos *in vivo*.

Palabras clave: *Leucaena leucocephala*, extracto hidroalcohólico, actividad ovicida, *Haemonchus contortus*

ABSTRACT

Haemonchus contortus (HC) is a gastrointestinal nematode of worldwide importance due to the economic losses it causes directly and indirectly in sheep production. Plant extracts rich in secondary metabolites



have been proposed as an alternative method of gastrointestinal nematode control in sheep and goats, as they fulfill their biological function and a sustainable environmental accompaniment. The objective of the present experiment was to determine the effect of the hydroalcoholic extract of *Leucaena leucocephala* leaves (EHLL) on the hatching of *Haemonchus contortus* *in vitro*. The extract was obtained by the maceration technique and was subjected to qualitative phytochemical characterization, in which instaurations, phenolic oxydryls, lactones, flavonols, floratanins, coumarins, saponins and aromatic compounds were identified. Concentrations of 100, 90, 80, 70, 60 and 50 mg/mL of the extract were evaluated on the inhibition of egg hatching (IEH) of HC. The hydroalcoholic extract of *L. leucocephala* showed 71% IEH at 100 mg/mL, an EC₅₀ and EC₉₀ of 52.22 and 302 mg/mL, respectively. The hydroalcoholic extract of *L. leucocephala* leaves contains bioactive compounds (phenolics, terpenes and flavonoids) that inhibit HC egg hatching with dose-dependent effect. Therefore, EHLL could be considered as an alternative control on this nematode, however, it is necessary to determine the specific metabolite that confers the activity, determine its toxicity and perform *in vivo* assays.

Keywords: *Leucaena leucocephala*, hydroalcoholic extract, ovicidal activity, *Haemonchus contortus*.

INTRODUCCIÓN

La producción de pequeños rumiantes en el mundo está limitada por factores agrometeorológicos, económicos y sanitarios, asociados a la presencia de microorganismos que causan enfermedades infecciosas. Las enfermedades parasitarias son un problema de salud, que afecta principalmente a los sistemas de producción extensivos de pequeños rumiantes; causando pérdidas económicas directas como la muerte de los animales, e indirectas por la disminución de parámetros productivos y reproductivos (Pérez-Pérez *et al.*, 2014).

La hemonchosis es una enfermedad parasitaria frecuente en los pequeños rumiantes, el agente etiológico es HC. HC se clasifica como un nematodo hematófago con tropismo por el abomaso, en el cual se adhiere para alimentarse. Este parásito está asociado a un cuadro de anemia y gastritis, que dependiendo de la cantidad de parásitos y la severidad de las manifestaciones clínicas pueden causar la muerte de ovinos adultos y neonatos (Kumarasingha *et al.*, 2016).

El control de las parasitosis se basa en la administración de antihelmínticos de origen químico sintético, entre los que destacan los derivados del benzimidazol, lactonas macrocíclicas, derivados del aminocetonitrilo monepantel e imidazotiazoles (Geary *et al.*, 2015). Al respecto el uso de antihelmínticos comerciales, en su momento tuvieron resultados prometedores para la ganadería; sin embargo, el uso irracional e inadecuado ha generado el desarrollo de poblaciones de nematodos con resistencia a antihelmínticos; además se ha reportado su impacto de índole ecológico, al afectar poblaciones no objetivo y en términos de inocuidad alimentaria, debido a la presencia de residuos de estas moléculas en los productos y subproductos de origen animal (Zajíčková *et al.*, 2020).



Debido a la problemática mencionada se han implementado diversas estrategias en el Control Integrado de Parásitos (CIP); de esta forma se busca reducir el uso de fármacos de origen químico para mitigar el impacto negativo a generar en el ambiente, aunado a ofrecer a los productores alternativas de control que permitan reducir costos de producción (Pérez-Pérez *et al.*, 2014).

Con este enfoque, el uso de extractos de plantas y sus metabolitos han sido propuestos como uno de los métodos alternativos más prometedores, para prevenir y controlar enfermedades asociadas a la presencia de algunos nematodos en rumiantes, dadas las diferentes actividades biológicas que se han reportado en los extractos de plantas, incluyendo la actividad antihelmíntica (Kotze & Prichard, 2016).

El potencial antihelmíntico de las plantas se ha asociado a su contenido de metabolitos secundarios, como terpenos (25,000 tipos), alcaloides (12,000 tipos) y compuestos fenólicos (8,000 tipos); de los cuales se han descrito diversos y posibles mecanismos de acción de acuerdo a su estructura química y a los enlaces que se pudieran formar con las moléculas estructurales del huevo o larva de los parásitos (Zajíčková *et al.*, 2020).

El mecanismo de acción de estos metabolitos secundarios no está claro; sin embargo se ha hipotetizado que podrían causar desde la parálisis y/o mortalidad larvaria, interferir con el desarrollo larvario, inhibir la eclosión de huevos e interferir en la fecundación de las hembras (Heeger *et al.*, 2017).

Se han obtenido diversos resultados con extractos de plantas que evidencian el potencial antihelmíntico que los metabolitos secundarios poseen frente a algunos nematodos de importancia en rumiantes, tanto en modelos *in vitro* como *in vivo*. Bajo esta premisa, se han realizado estudios con extractos hidroalcohólicos obtenidos a partir del fruto y hojas de *Caesalpinia coriaria*, los cuales inhiben la eclosión de *H. contortus* y *H. placei* a 25 mg/mL de acuerdo con lo reportado por (Rojo-Rubio *et al.*, 2019).

Por otro lado, se tiene evidencia de la evaluación realizada por (Castillo-Mitre *et al.*, 2017) quienes evaluaron el extracto hidroalcohólico de hojas de *Acacia cochliacantha* y reportaron la inhibición del 98 al 100% la eclosión de los huevos de *Haemonchus contortus* a concentraciones de 0.62 a 1.56 mg/mL respectivamente; actividad que fue asociada por los autores a la presencia de derivados del ácido cafeico y cumárico presentes en el extracto.

En el mismo sentido, (Von Son-de Fernex *et al.*, 2015) determinaron el efecto ovicida del extracto, obtenido a partir de hojas de *Leucaena leucocephala*, sobre *Cooperia spp.*, aunado a el efecto ovicida lograron identificar a la quercetina y el ácido cafeico, como los compuestos responsables de este efecto. Con ello, sugieren la posibilidad un efecto similar sobre otras especies de nematodos como *Haemonchus contortus*.



Al respecto, ([Hernandez et al., 2014](#)) realizaron un ensayo *in vivo* en corderos en crecimiento, a los cuales se les administró 30 mL de extracto de *Leucaena leucocephala* por 63 días, observando una disminución en la carga parasitaria del 54%; sin embargo los autores no determinaron el mecanismo de acción de dicho efecto.

De acuerdo con lo anterior, el presente estudio tuvo como objetivo determinar el efecto del extracto hidroalcohólico de hojas de *Leucaena leucocephala* sobre la eclosión de *Haemonchus contortus in vitro*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material Vegetal

Las hojas de *Leucaena leucocephala* fueron colectadas en el municipio de Tejupilco, Estado de México (18°54'N 100°09'O). Los árboles tenían en promedio 5 años y 4 m de altura y diámetro a la altura del pecho (DAP) de 23 cm, colectando únicamente el material vegetal de la copa. Para la identificación de la planta se consultó el herbario de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) y se verificó que las muestras correspondían como *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit (IBUNAM:MEXU:1362417).

Preparación del extracto

Las hojas de *Leucaena leucocephala* fueron secadas a la sombra a temperatura ambiente. Se maceraron 1000 g en 800 mL de una solución hidroalcohólica (30% metanol y 70% agua) y se dejó reposar por 72 horas. Pasado el tiempo de reposo el extracto fue filtrado usando papel filtro (Whatman® Qualitative Filter Paper, Grade 1) y posteriormente se eliminaron los solventes a presión reducida en un evaporador rotatorio (Büchi-Brand), obteniendo un rendimiento de 10 gramos. Lo anterior se realizó de acuerdo con la metodología descrita por ([González-Alamilla et al., 2019](#)). Se preparó una solución madre a una concentración de 400 mg/mL de agua destilada, solución a partir de la cual se prepararon las diferentes concentraciones de acuerdo a lo descrito por ([Marie-Magdeleine et al., 2010](#)). Las concentraciones evaluadas fueron: 100, 90, 80, 70, 60 y 50 mg/mL.

Caracterización fitoquímica cualitativa del extracto

La caracterización cualitativa del extracto se realizó de acuerdo con lo descrito por ([González-Alamilla et al., 2019](#); [Morales-Ubaldo et al., 2020](#)). Las pruebas utilizadas para determinar la presencia o ausencia de los compuestos activos fueron: prueba de KMnO_4 (para insaturaciones), FeCl_3 (para oxidrilos fenólicos, taninos vegetales), Liebermann-Burchard (para esteroides y triterpenos), Salkowski (para esteroides), prueba de cumarinas, Baljet (para sesquiterpenlactonas), H_2SO_4 (para flavonoides), Shinoda (para flavonoides), Dragendorff (para alcaloides), prueba de taninos, floratanino, esteroides, agitación y bicarbonato (para saponinas). Para cada prueba se utilizaron 500 mg del extracto.



Prueba de inhibición de la eclosión de huevo (IEH)

Para la obtención de huevos de *Haemonchus contortus*, un ovino raza Hampshire (3 meses de edad y un peso de 37 kg de peso vivo) clínicamente sano y libre de nematodos gastrointestinales, fue infestado con L3 de HC cepa INIFAP (350 larvas/kg/PV). El ovino donador se mantuvo bajo las regulaciones estándar de cuidado, bienestar y sufrimiento innecesario, de acuerdo con la legislación vigente de la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. Veintiún días después de la infestación se recolectaron muestras de heces y se cuantificaron huevos por gramo de heces (HPG), mediante la técnica de Mac Master descrita por (Rivero-Perez *et al.*, 2018).

Para la recuperación de los huevos de HC, se utilizó la metodología descrita por (von Son-de Fernex *et al.*, 2015), se lavaron 30 gramos de heces con agua destilada en tamices de 200, 100, 75 y 37 μm . El material retenido en el tamiz de 37 μm se lavó con 6 mL de solución salina saturada y centrifugado a 3,000 rpm/ 3 min. Para obtener huevos libres de materia orgánica y solución salina, el sedimento fue lavado en 3 ocasiones con agua destilada, hasta obtener una solución de huevo limpio para el montaje del bioensayo. En una placa de 96 pozos, se agregaron 50 μL de solución de huevo limpio (agua destilada) con 150 huevos aproximadamente más 50 μL de cada concentración a evaluar; con cuatro repeticiones, como control positivo se usó Ivermectina (5 mg/mL) y agua destilada como control negativo. La placa se incubó a 30°C durante 48 h en una cámara húmeda, después de la incubación, se cuantificó el número de huevos sin eclosionar y larvas L1 por pocillo. Finalmente, se calculó el porcentaje de inhibición de la eclosión (PIE) (Bizimenyera *et al.*, 2006).

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados por ANOVA y una comparación de medias por Tukey con un nivel de confianza del 95%. Las concentraciones efectivas que inhibieron el 50% (CE₅₀) y el 90 % (CE₉₀) de la eclosión de huevo de HC fueron calculadas usando un análisis PROBIT en el paquete estadístico SAS 9.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La caracterización fitoquímica cualitativa indicó la presencia de insaturaciones (reducción a dióxido de manganeso), mismas que se asocian a compuestos con enlaces etilénicos o compuestos con dos grupos hidroxilo en carbonos adyacentes. Se observó un resultado positivo para oxidrilos fenólicos; los cuales indican la presencia de hormonas, pigmentos o aceites esenciales. También se determinó la presencia de cumarinas provenientes del ciclo del ácido siquímico; así como de lactonas, producto de la unión de un alcohol con un ácido carboxílico en una misma molécula. La reacción positiva en la prueba de Salkowski, indicativo de la presencia de esteroides y triterpenos. Por otro lado, también se determinó la presencia de flavonoles y flavononas (Azcón-Bieto & Talón, 2003).



Los resultados referentes a las pruebas para chalconas, quinonas, Shinoda, sesquiterpenlactonas, agitación y bicarbonato, Lieberman-Buchard, taninos y esteroides, fueron negativos. La ausencia de estos compuestos se puede asociar a las características propias de la planta, a las condiciones medioambientales, como la temperatura, tipo de suelo, radiación solar y humedad; así como a factores del proceso de extracción, como la polaridad del solvente con el que se extraen, entre otros ([Zajíčková et al., 2020](#)).

La caracterización del extracto de *Leucaena leucocephala* mediante cromatografía de gases y espectrometría de masas fue informado por ([Salem et al., 2011](#)), en el cual indicaron que esta planta forrajera cuenta con cuarenta y cuatro metabolitos secundarios diferentes; de los cuales destacan los siguientes compuestos químicos: 2(H)-benzofuranona-a-tetrahidro-4,4,7a-trimetilo (un terpeno volátil: 23.1%) y ácido pentadecanoico-14-metil-metil éster (un monometil ácido ramificado: 8.2%), entre otros.

En este mismo estudio, se informó que el extracto alcohólico de *Leucaena leucocephala* está constituido principalmente por hidrocarburos oxigenados de compuestos C10 a C60, y contiene predominantemente hidrocarburos fenólicos.

En este mismo contexto, ([Von Son-de Fernex et al., 2015](#)) identificaron tres fitoquímicos en un fraccionamiento biodirigido del extracto hidroalcohólico de *Leucaena leucocephala*, estos compuestos fueron quercetina (82.21%), ácido cafeico (13.42%) y escopolamina (4.37%).

Si bien el extracto de *L. leucocephala* es rico en hidrocarburos fenólicos, que como se ha mencionado pueden generar eventualmente la pérdida de viabilidad de los huevos, no se descarta una participación de otro tipo de metabolitos, como saponinas y flavonoides; generando un efecto sinérgico, debido a que en las plantas y metabolitos trabajan bajo una dinámica conjunta, similar al sistema inmunológico, al conferir una protección frente a bacterias, virus, parásitos e incluso depredadores. Lo anterior debido a la formación de moléculas que permitan su supervivencia, o simplemente al converger en algún punto de la misma ruta metabólica ([Azcón-Bieto & Talón, 2003](#)).

En la mayoría de las plantas la presencia de los metabolitos secundarios está distribuida de acuerdo con las partes que conforman una planta (hojas, flor o fruto, tallo y raíz). En función de ello, la presencia de metabolitos puede presentar ligeras variaciones, ya que cada una de las partes que la conforman se encuentra expuesta a diferentes factores de estrés, y por lo tanto generar los metabolitos necesarios que le confieran protección y por ende las actividades biológicas ([Olguín-Rojas et al., 2019](#)).

Se evaluaron diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de *Leucaena leucocephala*, sobre la inhibición de la eclosión de huevos de HC. Como se puede observar en la tabla 1, existen diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos



($p < 0.05$). El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Leucaena leucocephala* presentó su mejor porcentaje de inhibición de eclosión de huevos a 100 mg/mL (71%), las concentraciones de 90, 80 y 70 mg/mL no mostraron diferencias estadísticas significativas entre ellas ($p > 0.05$), con un 67, 65 y 62% de inhibición de la eclosión de huevos respectivamente. En las concentraciones de 60 y 50 mg/mL se obtuvieron los porcentajes más bajos, lo cual evidencia un comportamiento dosis dependiente; en donde a menor concentración del extracto disminuye el porcentaje de inhibición de la eclosión.

Tabla 1. Porcentaje de inhibición de la eclosión de huevos de *Haemonchus contortus*, empleando extracto hidroalcohólico de hojas de *Leucaena leucocephala*

Concentración (mg/mL)	%IEH \pm E.E
Agua destilada	4 \pm 0.22 ^e
Ivermectina	100 ^a
EHLL 100	71 \pm 0.94 ^b
EHLL 90	67 \pm 0.63 ^c
EHLL 80	65 \pm 0.51 ^c
EHLL 70	62 \pm 0.54 ^c
EHLL 60	56 \pm 0.83 ^d
EHLL 50	48 \pm 0.89 ^d
Valor de P	0.001

EHLL, extracto hidroalcohólico de hojas de *Leucaena leucocephala*; IEH, inhibición de la eclosión de huevos; E.E, Error estándar; literales diferentes dentro de la misma columna indican diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$).

Algunas investigaciones han reportado efectos favorables de una amplia variedad de extractos; no obstante, no han llegado a determinar los mecanismos por los cuales sucede la pérdida de la viabilidad de los huevos en nematodos.

En este sentido, (Hernandez *et al.*, 2014) evaluaron el extracto hidroalcohólico de *Leucaena leucocephala* y observaron una reducción en la carga parasitaria del 54% en corderos en crecimiento; sin embargo, no se determinó el mecanismo de acción sobre los parásitos en cuestión. Se ha reportado que algunos compuestos presentes en extractos de plantas poseen metabolitos como saponinas y taninos que interfieren sobre la fecundidad en las hembras, disminuyendo así la carga parasitaria en el conteo de huevos (Zajíčková *et al.*, 2020). Dado ese antecedente, los resultados obtenidos en la presente investigación pudieran sugerir que la disminución de la carga parasitaria del estudio antes citado pudo asociarse con la inhibición de la eclosión de huevos, inducida por el extracto hidroalcohólico de *Leucaena leucocephala* (71% a 100 mg/mL), reportado en la presente investigación.

Como se ha mencionado, existen efectos directos que sugieren la capacidad de los taninos para unirse a proteínas de la mucosa intestinal y glicoproteínas de la cutícula, o bien, proteínas estructurales de los huevos, interfiriendo en el desarrollo y crecimiento e



inhibir la eclosión por pérdida de viabilidad (Hoste *et al.*, 2005). Desde el enfoque etnobotánico, el uso de las alternativas de control a base de extractos de plantas involucran una variedad de compuestos farmacológicamente activos, en especial los taninos, flavonoides y fenilpropanoides, a quienes se les atribuyen actividades biológicas como antiinflamatorios, antioxidantes y antihelmínticos (Mravčáková *et al.*, 2019). Con respecto a las aplicaciones con actividad antihelmíntica de los extractos vegetales, los mecanismos propuestos se mencionan que puedan presentar una variación de acuerdo con el contenido de los metabolitos presentes o aislados, según el tipo y polaridad de solventes utilizados (Zajčková *et al.*, 2020).

La capacidad de los taninos para formar complejos con glicoproteínas puede generar la inactivación de enzimas importantes para el desarrollo del huevo, así como para iniciar con el proceso de eclosión. En este sentido, (Rojo-Rubio *et al.*, 2019) determinaron que a una concentración de 25 mg/mL de extracto hidroalcohólico de hojas de *Caesalpinia coriaria* inhibe el 95% de la eclosión de los huevos de HC, actividad que fue asociada al contenido de taninos en las hojas de *Caesalpinia coriaria* (200 g/kg de materia seca). De acuerdo con lo mencionado, se ha documentado que los taninos pueden afectar negativamente la eclosión de huevos de este nematodo al unirse a la cutícula del huevo al ser rica en glicoproteínas, alterando el desarrollo del embrión y eventualmente el proceso de eclosión.

Se ha reportado la evaluación de diferentes extractos de *Leucaena leucocephala*, como extractos de vaina y partes aéreas de la planta, tal y como lo informó (Rivero-Perez *et al.*, 2019) quienes determinaron que el extracto hidroalcohólico de la vaina de *Leucaena leucocephala* inhibe la eclosión de los huevos de los nematodos en un 20% a una concentración de 50 mg/mL, porcentaje menor al obtenido en la presente investigación a la misma concentración de 50 mg/mL (48%). De tal forma, que se infiere que la variación de metabolitos farmacológicamente activos está en función de las partes de la planta (Hernandez-Alvarado *et al.*, 2018).

En el estudio de (Von Son-de Fernex *et al.*, 2015), se evaluó el efecto del extracto hidroalcohólico de hojas de *Leucaena leucocephala* sobre la inhibición de la eclosión de huevos de *Cooperia spp* y se observó una inhibición $90.49 \pm 2.8\%$; mismos que fueron analizados por microscopia electrónica de barrido, observando un daño externo irregular con pequeñas proyecciones y rupturas en las paredes laterales de la membrana del huevo, constatando el daño directo de la fracción del extracto frente a los componentes estructurales del huevo de *Cooperia spp.*, lo que sugiere un comportamiento similar para el extracto hidroalcohólico de *Leucaena leucocephala* evaluado en el presente estudio.

Con respecto a las concentraciones efectivas (Carvalho *et al.*, 2012) encontraron que el extracto de acetato de etilo, etanol y aceites esenciales de *Piper tuberculatum*, *Lippia sidoides*, *Mentha piperita*, *Hura crepitans* y *Capara guianensis* presentaron una CE_{50}



sobre la inhibición de la eclosión de HC a 0.031, 0.04, 0.037, 2.16 y 2.03 mg/mL respectivamente. Los resultados de la presente investigación indican una CE_{50} de 52.22 mg/mL y una CE_{90} de 302.8 mg/mL, en comparativa, las concentraciones son más altas; sin embargo, esto puede estar asociado al uso de diferentes plantas y solventes en el proceso de extracción de los metabolitos secundarios, ver figura 1.

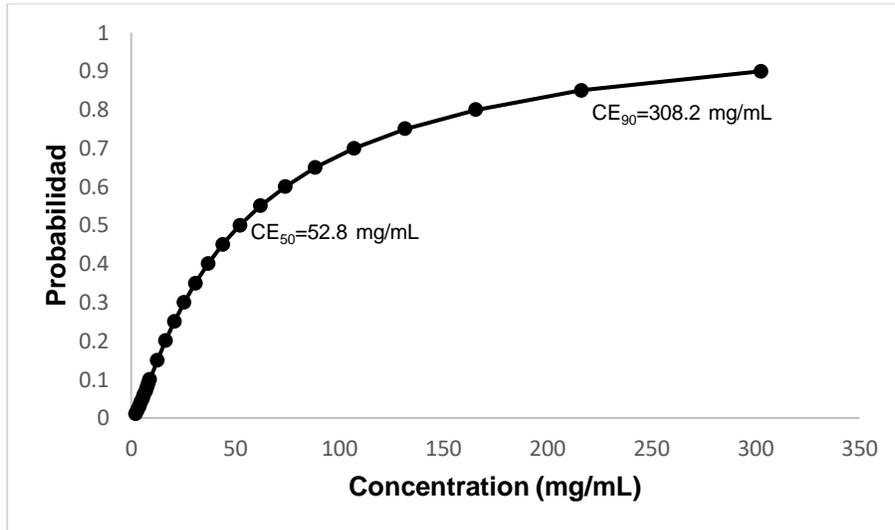


Figura 1. Concentraciones efectivas CE_{50} y CE_{90} del extracto hidroalcohólico de *Leucaena leucocephala* en la prueba de eclosión de huevos de *Haemonchus contortus*

CONCLUSIÓN

El extracto hidroalcohólico de hojas de *Leucaena leucocephala* contiene grupos de metabolitos secundarios que inhiben la eclosión de huevos de HC *in vitro* con un efecto dosis dependiente; sin embargo, es necesario identificar el metabolito o metabolitos específicos que le confieren la actividad, determinar su toxicidad y realizar ensayos *in vivo*.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la asistencia de la Secretaría de Investigación de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (UAEH) así como a PRODEP por la beca otorgada.

CONFLICTO DE INTERÉS

Todos los autores declaran que no tienen ningún conflicto de interés.

LITERATURA CITADA

AZCÓN-BIETO J, Talón M. 2003. Fundamentos de fisiología vegetal. In McGraw Hill. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/libro?codigo=556962>



BIZIMENYERA E, Githiori J, Swan G, Eloff J. 2006. *In vitro* Ovicidal and Larvicidal Activity of the Leaf, Bark and Root Extracts of *Peltophorum africanum* Sond. (Fabaceae) on *Haemonchus contortus*. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 5(8):608–614. <http://docsdrive.com/pdfs/medwelljournals/javaa/2006/608-614.pdf>

CARVALHO CO, Chagas ACS, Cotinguiba F, Furlan M, Brito LG, Chaves FCM, Stephan MP, Bizzo HR, Amarante AFT. 2012. The anthelmintic effect of plant extracts on *Haemonchus contortus* and *Strongyloides venezuelensis*. *Veterinary Parasitology*. 183(3–4):260–268. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.07.051>

CASTILLO-MITRE GF, Olmedo-Juárez A, Rojo-Rubio R, González-Cortázar M, Mendoza-de Gives P, Hernández-Beteta EE, Reyes-Guerrero DE, López-Arellano ME, Vázquez-Armijo JF, Ramírez-Vargas G, Zamilpa A. 2017. Caffeoyl and coumaroyl derivatives from *Acacia cochliacantha* exhibit ovicidal activity against *Haemonchus contortus*. *Journal of Ethnopharmacology*. 204:125–131. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.04.010>

GEARY TG, Sakanari JA, Caffrey CR. 2015. Anthelmintic drug discovery: Into the future. *Journal of Parasitology*. 101(2):125–133. <https://doi.org/10.1645/14-703.1>

GONZÁLEZ-ALAMILLA EN, Gonzalez-Cortazar M, Valladares-Carranza B, Rivas-Jacobo MA, Herrera-Corredor CA, Ojeda-Ramírez D, Zaragoza-Bastida A, Rivero-Perez N. 2019. Chemical Constituents of *Salix babylonica* L. and their antibacterial activity against Gram-positive and Gram-negative animal bacteria. *Molecules*. 24(16):1–12. <https://doi.org/10.3390/molecules24162992>

HEEGER A, Kosińska-Cagnazzo A, Cantergiani E, Andlauer W. 2017. Bioactives of coffee cherry pulp and its utilisation for production of Cascara beverage. *Food Chemistry*. 221:969–975. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.11.067>

HERNANDEZ-ALVARADO JL, Zaragoza-Bastida A, Lopez-Rodriguez GM, Peláez-Acero A, Olmedo-Juárez A, Rivero-Perez N. 2018. Antibacterial and antihelmintic activity of secondary metabolites of plants: approach in Veterinary Medicine. *Abanico Veterinario*. 8(1):14–27. <https://doi.org/10.21929/abavet2018.81.1>

HERNANDEZ PM, Salem AZM, Elghandour MMY, Cipriano-Salazar M, Cruz-Lagunas B, Camacho LM. 2014. Anthelmintic effects of *Salix babylonica* L. and *Leucaena leucocephala* Lam. extracts in growing lambs. *Tropical Animal Health and Production*. 46(1):173-178. <https://doi.org/10.1007/s11250-013-0471-7>



HOSTE H, Torres-Acosta JF, Paolini V, Aguilar-Caballero A, Etter E, Lefrileux Y, Chartier C, Broqua C. 2005. Interactions between nutrition and gastrointestinal infections with parasitic nematodes in goats. *Small Ruminant Research*. 60(1):141–151.

<https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2005.06.008>

KOTZE AC, Prichard RK. 2016. Anthelmintic Resistance in *Haemonchus contortus*. History, Mechanisms and Diagnosis. *Advances in Parasitology*. 93:397-428.

<https://doi.org/10.1016/bs.apar.2016.02.012>

KUMARASINGHA R, Preston S, Yeo TC, Lim DSL, Tu CL, Palombo EA, Shaw JM, Gasser RB, Boag PR. 2016. Anthelmintic activity of selected ethno-medicinal plant extracts on parasitic stages of *Haemonchus contortus*. *Parasites and Vectors*. 9(1): 1-7.

<https://doi.org/10.1186/s13071-016-1458-9>

MARIE-MAGDELEINE C, Udino L, Philibert L, Bocage B, Archimede H. 2010. *In vitro* effects of Cassava (*Manihot esculenta*) leaf extracts on four development stages of *Haemonchus contortus*. *Veterinary Parasitology*. 173(1):85–92.

<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.06.017>

MORALES-UBALDO AL, Hernández-Alvarado JL, Valladares-Carranza B, Velázquez-Ordoñez V, Delgadillo-Ruiz L, Rosenfeld-Miranda C., Rivero-Perez N, Zaragoza-Bastida A. 2020. Antibacterial activity of the *Croton draco* hidroalcoholic extract on bacteria of sanitary importance. *Abanico Veterinario*.10(1):1–10.

<https://doi.org/10.21929/abavet2020.2>

MRAVČÁKOVÁ D, Váradyová Z, Kopčáková A, Čobanová K, Grešáková L, Kišidayová S, Babják M, Dolinská MU, Dvorožňáková E, Königová A, Vadlejch J, Cieslak A, Ślusarczyk S, Várady M. 2019. Natural chemotherapeutic alternatives for controlling of haemonchosis in sheep. *Veterinary Research*. 15(1):1–13.

<https://doi.org/10.1186/s12917-019-2050-2>

OLGUÍN-ROJAS JA, Fayos O, Vázquez-León LA, Ferreiro-González M, del Carmen Rodríguez-Jimenes G, Palma M, Garcés-Claver A, Barbero GF. 2019. Progression of the total and individual capsaicinoids content in the fruits of three different cultivars of *Capsicum chinense* Jacq. *Agronomy*. 9(3):1–15.

<https://doi.org/10.3390/agronomy9030141>



PÉREZ-PÉREZ C, Hernández-Villegas MM, De La Cruz-Burelo P, Hernández-Bolio GI, Bolio-López GI. 2014. *In vitro* anthelmintic effect of methanolic leaf extract of *Gliricidia sepium* against gastrointestinal nematodes of sheep. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*.17(1):105–111. <https://www.redalyc.org/pdf/939/93930735013.pdf>

RIVERO-PEREZ N, Jaramillo-Colmenero A, Peláez-Acero A, Ballesteros-Rodea G, Zaragoza-Bastida A. 2019. Actividad antihelmíntica de la vaina de *Leucaena leucocephala* sobre nematodos gastrointestinales de ovinos (*in vitro*). *Abanico Veterinario*. 9(1):1–9. <https://doi.org/10.21929/abavet2019.95>

RIVERO-PEREZ N, Zaragoza-Bastida A, Vega-Sánchez V, Olave-Leyva JI, Vega-Angeles J, Peña-Jiménez FJ. 2018. Identification of main gastrointestinal parasites in donkeys (*Equus africanus asinus*) of Tulancingo Valley. *Abanico Veterinario*. 8(1):47–52. <https://doi.org/10.21929/abavet2018.81>

ROJO-RUBIO R, González-Cortazar M, Olmedo-Juárez A, Zimalpa A, Arece-Garcia J, Mendoza-Martínez GD, Aaron-Lee H, Vázquez-Armijo J, Mendoza-de-Gives P. 2019. *Caesalpinia coriaria* fruits and leaves extracts possess *in vitro* ovicidal activity against *Haemonchus contortus* and *Haemonchus placei*. *Veterinaria México*. 6(4):2–13. <https://doi.org/10.22201/fmvz.24486760e.2019.4.601>

SALEM AZM, Olivares M, Lopez S, Gonzalez-Ronquillo M, Rojo R, Camacho LM, Cerrillo SMA, Mejía HP. 2011. Effect of natural extracts of *Salix babylonica* and *Leucaena leucocephala* on nutrient digestibility and growth performance of lambs. *Animal Feed Science and Technology*. 170(1-2):27–34. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.08.002>

VON SON-DE FERNEX E, Alonso-Díaz MA, Mendoza-de Gives P, Valles-de la Mora B, González-Cortazar M, Zamilpa A, Castillo-Gallegos E. 2015. Elucidation of *Leucaena leucocephala* anthelmintic-like phytochemicals and the ultrastructural damage generated to eggs of *Cooperia* spp. *Veterinary Parasitology*. 214:89–95. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.10.005>

ZAJÍČKOVÁ M, Nguyen L, Skálová L, Raisová S, Matoušková P. 2020. Anthelmintics in the future: current trends in the discovery and development of new drugs against gastrointestinal nematodes. *Drug Discovery Today*. 25(2):430–437. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2019.12.007>