



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA



ACTIVIDAD ANTIHELMÍNTICA DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE
CORONA DE PIÑA (*Ananas comosus*)

Por:

Maritza Arcelia Rivas Zarco

Tesis presentada como requisito parcial para obtener el título de
Maestra en Ciencias Agropecuarias



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA



ACTIVIDAD ANTIHELMÍNTICA DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE
CORONA DE PIÑA (*Ananas comosus*)

Por:

Maritza Arcelia Rivas Zarco

Tesis presentada como requisito parcial para obtener el título de
Maestra en Ciencias Agropecuarias

Asesores:

Director: Dr. Gilberto Ballesteros Rodea

Co director: Dr. Adrian Zaragoza Bastida

Asesora: Dra. Nallely Rivero Pérez

Asesora: Dra. Camelia Alejandra Herrera Corredor

Soledad de Graciano Sánchez, S.L.P.

Noviembre 2023



Actividad antihelmíntica del extracto hidroalcohólico de corona de piña (*Ananas comosus*) © 2023 by Maritza Arcelia Rivas Zarco is licensed under [Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/)

El trabajo titulado “**Actividad antihelmíntica del extracto hidroalcohólico de corona de piña (*Ananas comosus*)**”, fue realizado por **Maritza Arcelia Rivas Zarco** como requisito parcial para obtener el título de “**Maestra en Ciencias Agropecuarias**”, fue revisado y aprobado por el suscrito Comité de Tesis.

Dr. Gilberto Ballesteros Rodea
Director

Dr. Adrian Zaragoza Bastida
Co director

Dra. Nallely Rivero Pérez
Asesora

Dra. Camelia Alejandra Herrera Corredor
Asesora

Ejido Palma de la Cruz, Municipio de Soledad de Graciano Sánchez, S.L.P. a los 23 días del mes de noviembre de 2023.

DEDICATORIA

En primer lugar, a mis padres, Irene Zarco Hernández y Marco Antonio Rivas Jacobo, por apoyarme siempre y por dar lo mejor de ellos para hacer de mí una mujer de bien, dándome ejemplo de superación, humildad y sacrificio, enseñándome a valorar todo lo que tengo, pero sobre todo por creer en mí, incluso cuando yo misma no lo hacía. Los amo.

A mi esposo, Adrián Herrera Carrizalez por estar siempre a mi lado, por su paciencia, amor y apoyo incondicional ante todas las adversidades, sobre todo por ser ese motor en mi vida para impulsarme a hacer y lograr todo lo que me propongo, gracias por creer en mí. Te amo.

A mis hermanos, Erick Jacksiel Rivas Zarco, Efrain Charit Rivas Zarco, Diana Arlette Rivas Zarco y Thania Lisset Rivas Zarco, como un ejemplo y meta de superación. Pero sobre todo por los buenos momentos y anécdotas compartidas a lo largo de mi vida. A mi cuñada, Sandra Aline Guizar Ayala por formar parte de mi familia.

A mis sobrinos, Eden Leonardo Rivas Guizar y Kailani Danae Rivas Guizar por llenar mi vida de felicidad y hacer mis días más amenos con sus sonrisas y ocurrencias.

A mis tíos, Alma Anaya Hernández e Iván Rivas Cambero, y a mis primas Isis Ivanna Rivas Anaya y Elissa Yiret Rivas Anaya, por abrirme las puertas de su casa y de su familia, sin ello este trabajo no hubiese tenido los mismos resultados. Siempre estaré infinitamente agradecida por su apoyo y por su bondad, sin duda una de las mejores experiencias durante este camino.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por estar siempre presente en mi vida, por otorgarme sabiduría y paciencia a lo largo de este proyecto, por la fortaleza que me brindo en momentos difíciles y por la motivación que me dio en la lucha por la superación en todo momento.

A la Facultad de Agronomía y Veterinaria, de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, por ser mi *alma mater* y por brindarme la oportunidad de seguir con mi formación académica y profesional.

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT), por el apoyo financiero otorgado para cursar el posgrado con el número de becaria 11436869.

Al Instituto de Ciencias Agropecuarias, de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, por brindarme la oportunidad de realizar una estancia en sus instalaciones y por los conocimientos impartidos para el desarrollo de este proyecto de tesis.

Al Dr. Gilberto Ballesteros Rodea y a la Dra. Camelia Alejandra Herrera Corredor por su paciencia, apoyo brindado y por compartir sus conocimientos para la elaboración y desarrollo de este proyecto.

A la Dra. Nallely Rivero Pérez, al Dr. Adrian Zaragoza Bastida y al equipo de trabajo del laboratorio de bacteriología, por el apoyo brindado, por su paciencia, por compartir sus conocimientos, por las buenas experiencias a lo largo de este trabajo, y por motivarme a persistir a lograr mis objetivos.

A la Dra. Alejandra Hernández Montoya, por el apoyo y los sabios consejos brindados durante la elaboración de este proyecto.

Al CIBIS IMSS Xochitepec, especialmente al Dr. Manasés González Cortázar, por su apoyo en esta investigación.

A mis compañeras de maestría por su amistad y los buenos momentos de vividos durante estos dos años.

CONTENIDO

DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
CONTENIDO	v
ÍNDICE DE CUADROS	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
RESUMEN	viii
SUMMARY	ix
INTRODUCCIÓN	1
Justificación.....	4
Hipótesis.....	5
Objetivos.....	5
General.....	5
Específicos.....	5
REVISIÓN DE LITERATURA	6
Ovinocultura en México.....	6
Principales Factores que Afectan la Producción Ovina.....	7
Enfermedades Parasitarias.....	7
Generalidades de <i>Haemonchus contortus</i>	8
Descripción Taxonómica.....	8
Descripción Morfológica.....	9
Ciclo Biológico.....	9
Patogenia.....	11
Resistencia Antihelmíntica.....	11
Piña (<i>Ananas comosus</i>).....	12
LITERATURA CITADA	14
CAPÍTULO 1. Extracto hidroalcohólico de <i>Ananas comosus</i>: Una alternativa contra <i>Haemonchus contortus</i>	27
ANEXO	48

INDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. NGI que afectan al ganado ovino en México.....	8

INDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1.	Participación estatal de carne en canal de ovino en México en 2020	7
2.	Huevos de <i>H. contortus</i> en muestra fecal de ovinos observada en microscopio (objetivo 10x)	10
3.	Ecdisis inducida de larva L ₃ , observada en microscopio (objetivo 10x).....	10
4.	Ciclo biológico de <i>Haemonchus contortus</i>	11
5.	Piña variedad MD-2.....	13

RESUMEN

La ovinocultura es una actividad pecuaria de gran importancia económica en México. El sistema con mayor predominancia es el extensivo, lo que deja a los animales susceptibles a contraer enfermedades causadas por nematodos gastrointestinales (NGI). Dichos parásitos son una de las principales amenazas y limitantes en la producción. *Haemonchus contortus* es uno de los nematodos con mayor importancia en el mundo, por su patogenicidad y prevalencia. Este nematodo afecta la salud, el bienestar y reduce la productividad de los ovinos. El tratamiento convencional para el control de este parásito se enfoca en el uso irracional y sin ningún criterio técnico de fármacos de origen químico, lo que ha provocado la resistencia antihelmíntica. Debido a esta problemática, se están buscando alternativas sustentables para el control y tratamiento de estos, una de ellas ha sido el uso de metabolitos provenientes de las plantas. Por ello el objetivo de esta investigación fue evaluar la actividad antihelmíntica (*in vitro*) del extracto hidroalcohólico, fracciones y subfracciones de la corona de piña (*Ananas comosus*) variedad MD-2 sobre una cepa de *Haemonchus contortus* resistente a benzimidazoles y caracterizar los compuestos bioactivos responsables de dicha actividad. Para determinar la actividad antihelmíntica, se evaluó el efecto del extracto hidroalcohólico y de sus fracciones a partir de la corona de la piña (*Ananas comosus*) sobre la inhibición de la eclosión y mortalidad larvaria de *Haemonchus contortus*. El extracto hidroalcohólico y las fracciones de la corona de piña mostraron tener mejor efecto sobre la inhibición de huevos que sobre la mortalidad de larvas de *H. contortus*, en donde el extracto hidroalcohólico (EHCP) y sus fracciones mostraron tener un comportamiento similar al de los controles positivos tialbendazol e ivermectina, mientras que en la prueba de mortalidad larvaria EHCP obtuvo la mejor actividad, a pesar de que los resultados tanto como del extracto como de las fracciones no alcanzaron más del 35% de mortalidad, fueron más activos que tiabendazol, ya que este no obtuvo ningún efecto sobre las larvas. Por lo que el extracto hidroalcohólico y las fracciones de corona de podrían ser un método sustentable y efectivo para el control y tratamiento de este, contribuyendo con el bienestar de los animales, el cuidado y preservación del medio ambiente, sin embargo. Se recomienda llevar a cabo pruebas *in vivo*.

SUMMARY

Sheep farming is a livestock activity of great economic importance in Mexico. The most predominant system is the extensive one, which leaves animals susceptible to contracting diseases caused by gastrointestinal nematodes (GIN). These parasites are one of the main threats and limitations in production. *Haemonchus contortus* is one of the most important nematodes in the world, due to its pathogenicity and prevalence. This nematode affects the health, and well-being and reduces the productivity of sheep. Conventional treatment to control this parasite focuses on the irrational use of chemical drugs without any technical criteria, which has caused anthelmintic resistance. Due to this problem, sustainable alternatives are being sought for the control and treatment of these, one of them has been the use of metabolites from plants. Therefore, the objective of this research was to evaluate the anthelmintic activity (*in vitro*) of the hydroalcoholic extract, fractions, and subfractions of the crown of pineapple (*Ananas comosus*) variety MD-2 on a strain of *Haemonchus contortus* resistant to benzimidazoles and to characterize the bioactive compounds responsible for said activity. To determine the anthelmintic activity, the effect of the hydroalcoholic extract and its fractions from the crown of pineapple (*Ananas comosus*) on the inhibition of hatching and larval mortality of *Haemonchus contortus* was evaluated. The hydroalcoholic extract and the fractions of the pineapple crown showed to have a better effect on the inhibition of eggs than on the mortality of *H. contortus* larvae, where the hydroalcoholic extract (EHCP) and its fractions showed to have a behavior similar to that of the positive controls tialbendazole and ivermectin, while in the larval mortality test, EHCP obtained the best activity, although the results of both the extract and the fractions did not reach more than 35% mortality, they were more active than thiabendazole, since that this had no effect on the larvae. Therefore, the hydroalcoholic extract and the crown fractions could be a sustainable and effective method for the control and treatment of this, contributing to the well-being of the animals, and the care and preservation of the environment, however. It is recommended to carry out *in vivo* tests.

INTRODUCCIÓN

La ovinocultura es una actividad pecuaria de gran relevancia que ha ido en crecimiento debido a la alta demanda de sus carnes y derivados, tomando gran importancia en México (Martínez *et al.*, 2011; Bobadilla *et al.*, 2021), existen diferentes sistemas de producción desde los altamente tecnificados, hasta los trashumantes, los cuales varían según la región (Partida *et al.*, 2013; Hernández *et al.*, 2019).

El sistema con mayor predominancia es el extensivo, el cual consiste en pastorear al ganado a la orilla de caminos o en agostaderos comunales (Herrera *et al.*, 2019), dejando a los animales susceptibles a contraer enfermedades causadas por nematodos gastrointestinales (NGI) (Medina *et al.*, 2014; Reyes-Guerrero *et al.*, 2021) que habitan en pastizales con condiciones favorables para su proliferación, entrando a sus hospederos durante el pastoreo, a través de la piel, tejido subcutáneo, cavidades corporales, musculo y sangre (Vazquez *et al.*, 2004; Herrera *et al.*, 2013; Ensuncho *et al.*, 2014), para finalmente alojarse en el abomaso, intestino delgado e intestino grueso de los rumiantes (Miller *et al.*, 2012; Mungia *et al.*, 2018).

Los NGI parasitan a animales de todas las edades, siendo los animales jóvenes los más susceptibles a partir de su primera temporada de pastoreo debido a su sistema inmunológico inmaduro (de Cesaro *et al.*, 2016; Zvinorova *et al.*, 2016; Salgado-Moreno *et al.*, 2017).

Haemonchus contortus, es un nematodo gastrointestinal hematófago, perteneciente a la familia Trichostrongylidae, presenta un ciclo de vida directo y se transmite horizontalmente a través del pastoreo por larvas de tercer estadio (L₃) (Arsenopoulos *et al.*, 2021). Tiene mayor predominancia en climas tropicales y subtropicales, pero ha logrado adaptarse a regiones semiáridas (Minguía *et al.*, 2018), por lo que es considerado como uno de los nematodos con mayor importancia en el mundo (Charlier *et al.*, 2020; Baltrušis *et al.*, 2022).

Debido a su alta patogenicidad y prevalencia (Burgunder *et al.*, 2018) *H. contortus* ocasiona grandes pérdidas económicas (Jaramillo *et al.*, 2021) volviendo a los sistemas de producción poco rentables para los productores, puesto que las tasas de crecimiento, fertilidad y calidad de la carne se ven seriamente afectadas (Crook *et al.*, 2016; Doyle *et al.*, 2018). Los principales signos asociados al parasitismo de este nematodo son:

falta de apetito, diarrea, reducción en el peso vivo, anemia, edema y muerte en los animales muy afectados (Moreno *et al.*, 2010; Zaragoza *et al.*, 2019).

El tratamiento más común para el control de este parásito se enfoca en la aplicación de distintos fármacos (André *et al.*, 2020), las cuatro clases principales son benzimidazoles (mebendazol, albendazol, febendazol, flubendazol etc.), imidazotiazoles (levamisol), lactonas macrocíclicas (ivermectina, moxidectina) y el derivado de aminoacetoniitrilo monepantel (Zajíčková *et al.*, 2021). Sin embargo, el uso indiscriminado y sin ningún criterio técnico de los mismos ha contribuido a la selección y adaptación de distintas familias multiresistentes (Rehman *et al.*, 2021).

Ante esta situación, se han investigado alternativas sustentables para el control y tratamiento de los NGI (Rivero *et al.*, 2019), como el manejo adecuado de la alimentación, partículas de cobre, rotación de potreros, separación de animales con la capacidad de resistir a infecciones parasitarias y la utilización de plantas con metabolitos secundarios con actividad antihelmíntica comprobada (Katik *et al.*, 2011; Zaragoza *et al.*, 2019).

Los metabolitos secundarios extraídos como terpenos, alcaloides, saponinas, antaquinonas y taninos (Hernández *et al.*, 2018) son compuestos orgánicos que se derivan del metabolismo secundario de las plantas (Augustin *et al.*, 2011; Khaw *et al.*, 2017) y no tienen una función directa con las funciones primarias de las mismas (Avalos *et al.*, 2009; Sepúlveda *et al.*, 2018), la función principal de estos compuestos es brindar protección y supervivencia a las plantas (Pérez y Jiménez, 2011; Flores-Villa *et al.*, 2020).

Hay evidencia en que los taninos pueden provocar diversas afectaciones de las funciones vitales de los nematodos, como lo es en su movilidad, nutrición y posiblemente en su reproducción (Medina, *et al.*, 2014; Hernández *et al.*, 2018). Además de producir un efecto colateral a través de la defensa inmunológica de los pequeños rumiantes contra los NGI (Hoste *et al.*, 2012; Tong *et al.*, 2022).

Se ha determinado de que los taninos aumentan la invulnerabilidad (reducción en la manifestación de enfermedades, aumento en la productividad de carne y lana entre otros) y resistencia (reducción en la cantidad de huevos por gramo de heces (HPGH), menor carga parasitaria y disminución en el potencial reproductivo de las hembras

parásitas) de los pequeños rumiantes contaminados con estas nematodiasis (Torres-Acosta & Hoste, 2008; Hernández *et al.*, 2018).

Una de las plantas considerada importante para el análisis de sus propiedades fitoquímicas es la piña (*Ananas comosus* L.). Esta especie tropical pertenece a la familia *Bromeliaceae*, y es originaria del sur de América, (Santos *et al.*, 2021). Se ha demostrado que presenta propiedades terapéuticas que incluyen actividad antiinflamatoria, anticoagulantes, anticancerígenas, antifúngica, facilita la digestión y presenta actividad antihelmíntica (Stepek *et al.*, 2005; Domingues *et al.*, 2013; Ibarra *et al.*, 2021).

Destacando a esta última, debido a que se ha encontrado que en el tallo del fruto se localiza la cisteína-proteasa bromelina, una enzima capaz de promover la digestión de la cutícula y muerte de los NGI (Stepek *et al.*, 2007; Buttle *et al.*, 2011; Daiba *et al.*, 2022). Otras investigaciones realizadas han determinado que *Ananas comosus* posee compuestos fenólicos, esteroides, flavonoides, terpenos, saponinas, quinina, cumarina, alcaloides y taninos en todas sus partes en diferentes concentraciones (Agnes y Anusuva, 2016), capaces de presentar actividad antihelmíntica (Hernández *et al.*, 2018; Gaudin *et al.*, 2019).

Por lo anterior, el objetivo de esta investigación fue evaluar la actividad antihelmíntica (*in vitro*) del extracto hidroalcohólico, fracciones y subfracciones de la corona de piña (*Ananas comosus*) variedad MD-2 sobre una cepa de *Haemonchus contortus* resistente a benzimidazoles y caracterizar los compuestos bioactivos responsables de dicha actividad.

Justificación

La ovinocultura es una actividad pecuaria de gran relevancia en México, a pesar de que la producción ha ido en crecimiento, esta no ha logrado satisfacer la demanda a nivel nacional y mundial, uno de los motivos al cual se ha adjudicado esta problemática principalmente en los sistemas extensivos, es a las parasitosis causadas por nematodos gastrointestinales. Dichos parásitos amenazan la salud animal y la economía de los productores debido a las altas cargas parasitarias y a la ausencia de planes sanitarios, ya que se constata que las parasitosis provocan pérdidas en la producción de carne, lana y leche, y en casos más severos pueden causar la muerte, fundamentalmente de animales jóvenes.

El tratamiento más común para el control de estos parásitos se enfoca en la aplicación irracional y sin ningún criterio técnico de fármacos de origen químico, lo que ha permitido a los nematodos sobrevivir a dosis terapéuticas de manera generacional, fenómeno conocido como resistencia antihelmíntica, además de causar grandes alteraciones en el medio ambiente, como la contaminación de mantos freáticos, muerte de microorganismos edáficos, insectos y artrópodos benéficos.

Por lo cual es de gran importancia buscar medidas de control funcionales, que contribuyan con el bienestar animal, el cuidado y la preservación del medio ambiente, que permitan controlar a estos parásitos y al uso excesivo de estos antihelmínticos de origen químico.

Una de estas alternativas es el uso de plantas y residuos agroindustriales con potencial antihelmíntico, ya que estos poseen un alto contenido de metabolitos secundarios capaces de intervenir con las funciones vitales de algunos géneros de NGI, como es el caso de *H. contortus*, considerado como uno de los nematodos con mayor importancia en el mundo debido a los altos índices de mortalidad que ocasiona.

Hipótesis

Los compuestos presentes en el extracto hidroalcohólico de corona de piña variedad MD-2 y sus fracciones (*Ananas comosus*) presentarán actividad antihelmíntica contra *Haemonchus contortus*.

Objetivos

Objetivo General

Evaluar la actividad antihelmíntica (*in vitro*) del extracto hidroalcohólico, fracciones y subfracciones de la corona de piña (*Ananas comosus*) variedad MD-2 sobre una cepa de *Haemonchus contortus* resistente a benzimidazoles y caracterizar los compuestos bioactivos responsables de dicha actividad.

Objetivos Específicos

- Obtener el extracto hidroalcohólico, fracciones y subfracciones de la corona de la piña (*Ananas comosus*).
- Evaluar el efecto del extracto, fracciones y subfracciones obtenidas a partir de la corona de piña (*Ananas comosus*) variedad MD-2 contra la inhibición de la eclosión y la mortalidad larvaria de *Haemonchus contortus*.
- Determinar la citotoxicidad del extracto hidroalcohólico mediante el modelo *Artemia salina*.
- Identificar los compuestos presentes en las sub-fracciones obtenidas a partir de la corona de piña variedad MD-2 con mejor actividad antihelmíntica.

REVISIÓN DE LITERATURA

Ovinocultura en México

Los ovinos (*Ovis aries*), se consideran uno de los primeros animales en ser domesticados por el hombre, posiblemente por su producción diversificada, su tamaño y hostilidad, proporcionándonos principalmente alimento y vestido (Molony *et al.*, 1993; Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural [SADER], 2017).

En México la cría de ovinos es una actividad relevante, debido a que proporciona un importante aporte de proteína de origen animal para los mexicanos (Mesana *et al.*, 2013; Hernández-Marín *et al.*, 2018). El sistema con mayor predominancia es el extensivo, en donde los animales pastan libremente durante el día en agostaderos de zonas áridas, semiáridas, terrenos agrícolas donde aprovechan los residuos de cosechas, o incluso en orillas de los caminos (Chávez-Espinoza *et al.*, 2022; González-Reyna *et al.*, 2020).

Por otro lado, en México el ganado ovino es de tipo criollo y un porcentaje bajo son de razas puras como: Suffolk, Hampshire, Rambouillet y Corriedale (SADER, 2017). La producción nacional se concentra principalmente en México, Hidalgo, Veracruz, Jalisco, Puebla, Zacatecas, Tlaxcala y San Luis Potosí, con un aparte del 64% de la producción total nacional (Figura 1) (Sistema de Información Agroalimentaria y pesquera [SIAP], 2020).

Los principales productos obtenidos de este sistema de producción son cortes, animales vivos y gastronomía tradicional (mixiotes de borrego y barbacoa). Esta última ha aumentado su popularidad, y el 95% de la carne de borrego es destinada para este platillo (Herrera *et al.*, 2019).

Según datos del SIAP, reporta que en 2020 se produjeron 6,109 t de carne de ovino (SIAP, 2020). Sin embargo, esta producción de carne de borrego es deficiente para cubrir los requerimientos de la población a nivel nacional, ya que en el país solamente se produce el 39% de la carne que se consume, por lo que se deben de buscar estrategias para aumentar la producción y productividad de este sistema. (Camacho *et al.*, 2021).

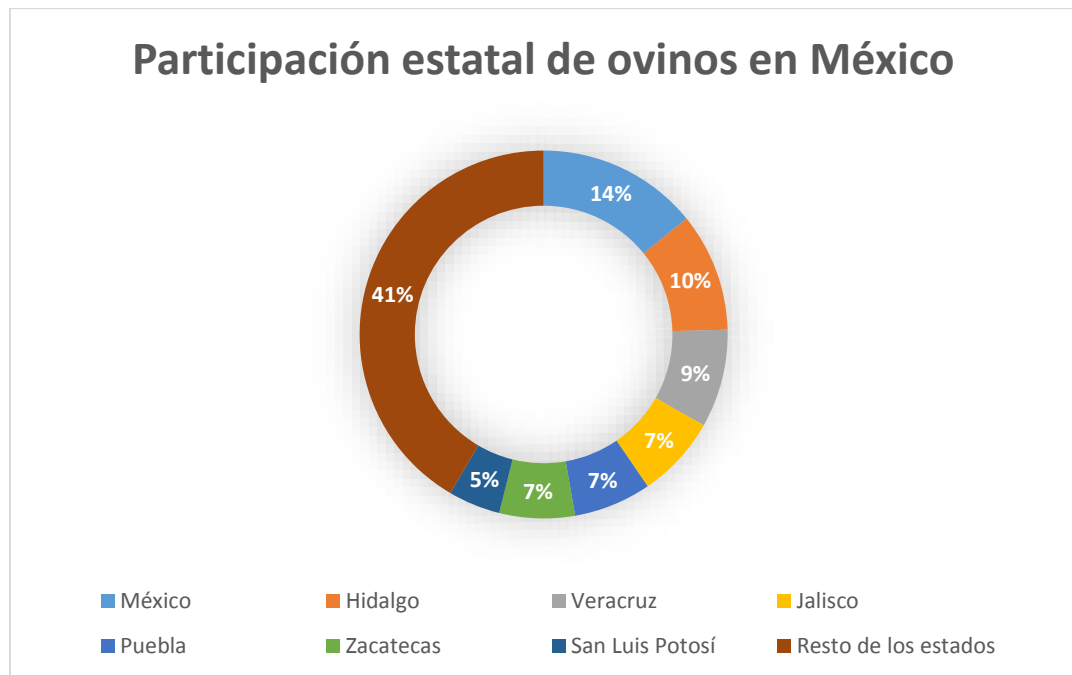


Figura 1. Participación estatal de carne en canal de ovino en México en 2020 (SIAP, 2020)

Principales Factores que Afectan a la Producción Ovina

Enfermedades Parasitarias

En el caso particular de los ovinos, se estima que el parasitismo interno es una de las patologías más común y que más repercute en la economía de los productores a nivel mundial (Osório *et al.*, 2020) ya que afectan de manera significativa la salud de los borregos, dado que, la digestibilidad, producción de carne, lana, leche y el crecimiento de los animales se ven seriamente afectados gracias a estas parasitosis (Ninamancco *et al.*, 2021), y en casos más severos causan la muerte, en donde los animales jóvenes, desnutridos e inmunodeprimidos son los más susceptibles, lo que conlleva a una baja eficiencia productiva (Hernández *et al.*, 2018; Zaragoza *et al.*, 2019).

Cabe mencionar que, prácticamente la totalidad de los rebaños en producciones con sistema extensivo sufren este tipo de infección (Rojas *et al.*, 2007; Rodríguez-Martínez *et al.*, 2018).

Diversos factores interfieren en el nivel de infestación parasitaria, como la localización geográfica, los tipos de sistema de producción, los programas antiparasitarios puestos en práctica, etc., y, en la mayoría de las ocasiones, son el resultado de un grupo de

factores, tales como la alimentación, la estacionalidad en la producción de los pastos y su efecto modulador en la reproducción (Arece, 2007; Rodríguez *et al.*, 2015).

Entre los principales nematodos que afectan a ovinos y caprinos identificados en México se encuentran *Haemonchus contortus*, *Cooperia curticei*, *Trichostrongylus colubrifomis*, *Trichostrongylus axei*, *Teladorsagia circumcincta*, *Oesophagostomum spp.*, *Nematodirus spp.* y *Trichuris ovis*, los cuales se distribuyen a lo largo del tracto gastrointestinal de los animales, sin embargo, presentan afinidad a una sección en particular donde desarrollan un cuadro patológico particular (Cuadro 1) (López *et al.*, 2013; Cabanelas *et al.*, 2017; Mondragón-Ancelmo *et al.*, 2019).

Cuadro 1. NGI que afectan al ganado ovino en México

Género	Especie	Órgano digestivo
<i>Haemonchus</i>	<i>contortus</i>	
<i>Trichostrongylus</i>	<i>axei</i>	Abomaso
<i>Teladorsagia</i>	<i>circumcincta</i>	
<i>Trichostrongylus</i>	<i>culubrifomis</i>	
<i>Cooperia</i>	<i>curticei</i>	Intestino delgado
<i>Nematodirus spp.</i>		
<i>Oesophagostomum spp.</i>	<i>ovis</i>	Intestino grueso
<i>Trichuris</i>		

Generalidades de *Haemonchus contortus*

Descripción Taxonómica

Reino: Animalia

Clase: Nematoda

Phylum: Nematelminthos

Orden: Strongylida

Superfamilia: Trichostrongyloidea

Familia: Trichostrongylidae

Subfamilia: Haemonchinae

Género: *Haemonchus*

Especie: *H. contortus*

Descripción Morfológica

El *Haemonchus* (o gusano en forma de “palo de barbería”), es un helminto redondo no segmentado (Carson *et al.*, 2023). Los machos miden entre 10-20 mm y se caracterizan por su bolsa copuladora formada por dos grandes lóbulos laterales y un pequeño lóbulo dorsal colocado asimétricamente y es de color rojo uniforme (Selemon, 2018). Las hembras miden entre 18-30mm de longitud, tienen un tubo digestivo rojizo lleno de sangre ingerida, rodeado en espiral por dos cordones genitales blancos (ovarios) (Audebert & Durette-Desset, 2007; Cruz, 2020).

Los huevos son de tipo estrongiloide y miden alrededor de 45 x 70 μm (Llinas-Cervantes, 2012). Es considerado como el parásito de mayor importancia económica de los pequeños rumiantes, debido, a que es altamente patógeno y que por sus hábitos hematófagos se convierte en uno de los que tienen mayor grado de afectación (Cuéllar, 2014; Saminathan *et al.*, 2015; Flay *et al.*, 2022).

Los estadios endoparásitos (L₅ y L₆) de dicho nematodo son capaces de extraer hasta 250 ml de sangre por día cuando hay infecciones de >5000 larvas, siendo los responsables de brotes de enfermedades agudas con altos niveles de mortalidad (Angulo-Cubillán *et al.*, 2007; Cruz, 2020). Los signos asociados con este nematodo son anemia, bajo volumen de células empaquetadas (PCV), diarrea, deshidratación, acumulación de líquido periférico e interno, entre otros (Pineda-Alegría *et al.*, 2017).

Ciclo Biológico

Los parásitos adultos se hospedan en el tracto gastrointestinal de los rumiantes y su ciclo biológico está dividido en dos fases: exógena y endógena (Cepeda, 2017).

La fase exógena comienza cuando los huevos fértiles de los NGI junto con las heces fecales de los rumiantes son expulsados al ambiente (Figura 2), mismos que dan origen a larvas L₁ al eclosionar cuando las condiciones son favorables para su proliferación (temperatura de 28 °C y una humedad relativa del 80 %) (Olmedo-Juárez *et al.*, 2022), dichas larvas se alimentan de las bacterias contenidas en las heces de los animales,

para así lograr desarrollarse hasta larvas infectantes (L_3), se estima que este proceso consta entre 7 y 15 días aproximadamente (Van Dijk y Morgan, 2011; Selemon, 2018).

Las larvas L_3 presentan una vaina a su alrededor la cual les permite sobrevivir durante periodos largos si las condiciones son favorables, estas abandonan la materia fecal y migran a la parte aérea de los pastos que sirven como forraje para los rumiantes, esperando ser ingeridas por los mismos (Cardona y Pacheco, 2021). Las L_3 no necesitan alimentarse ya que dependen de la energía almacenada para sobrevivir, incluso si hay bajas temperaturas estas se inactivan y consumen poca energía para subsistir durante periodos largos (Flay *et al.*, 2022).



Figura 2. Huevos de *H. contortus* en muestra fecal de ovinos, observada en microscopio (objetivo 10x)



Figura 3. Ecdisis inducida de larva L_3 , observada en microscopio (objetivo 10x)

La fase endógena comienza con la ingestión de los pastos contaminados con L_3 e infestar a los rumiantes. Cuando la larva infectante L_3 ingresa al rumen muda por la acidez, ocasionada por las enzimas contenidas en la células de este (leucinoaminopeptidasa) mediante las células neurosecretoras de las larvas (figura 3) (Soca *et al.*, 2005; Guerrero, 2018), y en poco tiempo migra al abomaso para desarrollarse y dar origen a larva cuatro (L_4), después se aloja en el lumen abomasal para transformarse en L_5 , la cual desarrolla un estilete oral con el cual perforan las paredes del abomaso para adherirse y succionar sangre induciendo hemorragias.

Las L_5 se alimentan hasta convertirse en adultas (L_6), diferenciarse sexualmente y reproducirse (Vázquez, 2000; Paredes, 2021). Las hembras adultas son capaces de expulsar al día entre 5 000 a 10 000 huevos (Torres y Aguilar, 2005; Guerrero, 2018).

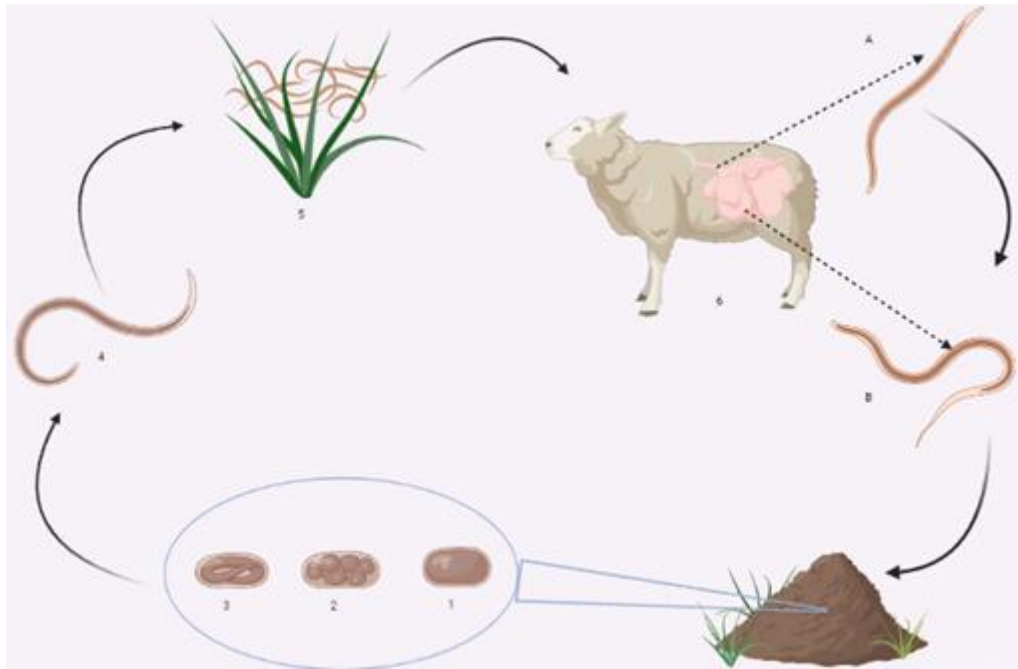


Figura 4. Ciclo biológico de *Haemonchus contortus* (Fuente: López-Rodríguez *et al.*, 2023)

Patogenia

Son varios los factores implicados en el daño causado por el parasito en la oveja, sin embargo, nos enfocaremos en dos de ellos. Primero, las larvas en desarrollo dañan las células glandulares del estómago, lo que produce una alteración del proceso digestivo (El- Ashram *et al.*, 2017; Jasso, 2017). La segunda forma en que se produce el daño es específica de *Haemonchus*, ya que es un chupador de sangre voraz y elimina cantidades considerables de sangre de las ovejas (0.05 ml/parásito/día) (Rani *et al.*, 2019).

La pérdida de sangre puede llegar a ser rápidamente mayor de lo que el animal puede reemplazar, lo que resulta en anemia (un nivel bajo de células sanguíneas) (Arsenopoulos *et al.*, 2021). La anemia puede llegar a ser tan grave que los animales no pueden transportar el oxígeno adecuado a los tejidos, lo que resulta en la muerte del animal (Alvarado-Alvarado *et al.*, 2017).

Resistencia Antihelmíntica

Las infecciones por NGI son de suma importancia en la producción de rumiantes con efectos que varían desde pérdidas subclínicas de peso a la muerte de animales severamente parasitados (Sepúlveda-Vázquez *et al.*, 2018). Estos nematodos están

asociados principalmente a los animales que están en pastoreo y toda práctica de producción animal que contemple el aprovechamiento racional del forraje (Collazo-Preciado *et al.*, 2023). La principal forma de controlar estas nematodiasis se basa en la administración de antihelmínticos, que en algunos casos también son utilizados como profilácticos, los cuales se han constituido en insumos indispensables para mantener la eficiencia productiva de los rumiantes (Anziani & Arduoso, 2017; Selemon, 2018). Sin embargo, se ha generado la aparición de resistencia de los nematodos a estos antiparasitarios debido a la frecuencia de administración, la subdosis, la elección errónea del fármaco o la rápida reinfección (Medina *et al.*, 2014; Mphahlele *et al.*, 2019).

Lo que ha dado resultado a una modificación en el genoma o al aumento de expresión de un carácter hereditario periódicamente, lo que se traduce como la capacidad de una población de nematodos de sobrevivir a las dosis terapéuticas de los distintos fármacos que resultarían tóxicos para la totalidad de los individuos en una población susceptible de la misma especie, además, los nematodos capaces de sobrevivir al tratamiento transmiten estos alelos resistentes de manera generacional (Márquez, 2003; Mayoral *et al.*, 2017).

La propagación de estos genes resistentes está vinculada principalmente a la movilización de animales infestados, ya que ayuda a los nematodos con resistencia antihelmíntica a moverse a través de estos para establecerse en zonas más lejanas (Buitrago y Correa-Valencia, 2020).

Piña (*Ananas comosus*)

Ananas comosus L., mejor conocida por su nombre común “piña”, es un fruto originario del sur de América, pertenece a la familia *Bromeliaceae* (Santos *et al.*, 2021). Posee una adaptación fotosintética CAM, la cual le permite un aprovechamiento eficiente del agua en ambientes áridos (Chen *et al.*, 2019), es herbácea y posee una inflorescencia de tallo corto con alrededor de 100 a 200 flores situadas en forma de espiral, la etapa de floración dura alrededor de 30 a 70 días, para finalmente dar origen a un único fruto partenocárpico, el cual demora aproximadamente 135 días en madurar (Gómez y Ríos-Rojas, 2020).

La planta de piña es típica de climas tropicales y subtropicales, requiere temperaturas de 23 a 30 °C y alrededor de 80 a 100 mm de agua por mes, es un fruto exigente por

lo que si hay alteraciones en sus requerimientos las repercusiones se ven reflejadas considerablemente en el desarrollo de las hojas y la formación, maduración y calidad del fruto (Hikal *et al.*, 2021). Un ejemplo de esto sería cuando hay exceso de agua, el fruto de piña tendrá bajo contenido de azúcar y una acidez alta, por lo que la calidad será deficiente (Chica, 2018).

La piña es un fruto de alto valor comercial a nivel mundial, es cultivada en 86 países de todo el mundo (FAO, 2019), en donde México ocupa el sexto lugar a nivel mundial. En el 2022, se produjeron 1,251,094.44 toneladas a nivel nacional, Campeche, Veracruz, Oaxaca, Tabasco, Quintana Roo y Nayarit son los principales estados productores de piña en México, cubriendo el 94% de la producción total nacional (SIAP, 2022). Según datos de la SADER, el consumo per cápita al año en 2017 fue de 6.3 kg (SADER, 2017).

De la amplia variedad de piñas cultivadas en el mundo, los cultivares comerciales predominantes en México son Cayena (60 %), MD2 (30 %), criollas (4 %), Champaka (menos del 1 %) y las ornamentales (menos del 0.005 %) (Uriza *et al.*, 2018; Mercado-Ruiz *et al.*, 2019). Sin embargo, actualmente estos cultivares están siendo desplazados por el híbrido MD-2 conocido como “piña miel”, “Golden Sweet” o “Honey Golden”, debido a la preferencia de los mercados nacionales e internacionales por su dulzura, uniformidad y consistencia en madurez y tamaño (Moreno *et al.*, 2021).



Figura 5. Piña variedad MD-2

LITERATURA CITADA

- Agnes J. X. and Anusuya A. *Revista internacional de investigación en farmacología y farmacoterapia*. Cribado fitoquímico y actividad antioxidante in vitro de *Ananas comosus*. (2021). 5 (2), 162-169.
<https://ijrpp.com/ijrpp/article/view/345>
- Alvarado-Alvarado, A., González-Garduño, R., Zaragoza-Vera C., Arjona-Jiménez G., & López-Arellano, M. *AGROProductividad* "Parámetros inmunológicos en ovinos de pelo para abasto contra nematodos gastrointestinales en Tabasco, México." (2017), vol. 10, núm. 2, págs. 47. Gale OneFile: Informe Académico, link.gale.com/apps/doc/A534487619/IFME?u=anon~3f1ab60d&sid=googleScholar&xid=b52f714a.
- André, W. P. P., Paiva, J. R., Cavalcante, G. S., Ribeiro, W. L. C., Filho, J. A., Cavalcanti, B. C., De Moraes, S., De Oliveira, L., Bevilaqua, C. M. L., & Da Silva Abreu, F. O. M. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. Chitosan nanoparticles loaded with carvacrol and carvacryl acetate for improved anthelmintic activity. (2020). <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20200047>
- Angulo-Cubillán, F. J., C. L. García, M. Cuquerella, J. M. Alunada. (2007). Relación *Haemonchus contortus*- Ovino: Una Revisión. *Rev. Sci. FCV-LUZ*. Vol. XVII, N° 6, 577 – 587.
- Anziani, O., & Arduoso, G. *Revista de investigaciones agropecuarias*. Resistencia a los antihelmínticos en nematodos intestinales que parasitan a los equinos en la Argentina. *RIA*. (2017), 43(1), 24-35.
http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S166923142017000100006&lng=es&tlng=es.
- Arece, J. *Pastos y Forrajes*. La epizootiología como herramienta para el control parasitario en ovinos.(2007), pp 35-46.
- Arsenopoulos, K. V., Fthenakis, G. C., Katsarou, E. I., & Papadopoulos, E. *Animals*, *Haemonchosis: A Challenging Parasitic Infection of Sheep and Goats*. (2021). 11(2), 363. <https://doi.org/10.3390/ani11020363>
- Audebert, F., & Durette-Desset, M. C. *Parasite*. ¿Do lagomorphs play a relay role in the evolution of the Trichostrongyline nematodes? (2007), 14(3), 183–197. doi:10.1051/parasite/2007143183

- Augustin, J. M., Kuzina, V., Andersen, S. B., & Bak, S. *Phytochemistry*. Molecular activities, biosynthesis and evolution of triterpenoid saponins. (2011). 72(6), 435–457. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2011.01.015>
- Ávalos, G. A. & Pérez C. E. *Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal*. Metabolismo secundario de plantas. (2009). 2(3):119-45.
- Baltrušis, P., Doyle, S., Halvarsson, P., & Höglund, J. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, Genome-wide analysis of the response to ivermectin treatment by a Swedish field population of *Haemonchus contortus*. (2022). Vol. 18, pp. 12-19, ISSN 2211-3207, <https://doi.org/10.1016/j.ijpddr.2021.12.002>.
- Bobadilla, S. E., Ochoa, A. F., & Perea, P. M. *Agronomía Mesoamericana*, Dinámica de la producción y consumo de carne ovina en México 1970 a 2019. (2021). 32 (3),963-982.
- Buitrago, M. J. A., & Correa-Valencia, N. M. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. Efectividad de tres principios antihelmínticos comúnmente utilizados contra nematodos gastrointestinales en caballos colombianos. (2020), 31 (3), e16206. <https://dx.doi.org/10.15381/rivep.v31i3.16206>
- Burgunder J., Petrželková JK, Modry D., Kato A., Juránková J., & Macintos J. *Aplicación Animación Comportamiento Ciencia*. Medidas fractales en los patrones de actividad: ¿los parásitos gastrointestinales afectan la complejidad del comportamiento de las ovejas?. (2018). 205: 44-53
- Buttle, D., Behnke, J. M., Bartley, Y., Elsheikha, H. M., Bartley, D. J., Garnett, M. C., Donnan, A. A., Jackson, F., Lowe, A., Duce, I. R., *Parasite Vector*. Oral dosing with papaya latex is an effective anthelmintic treatment for sheep infected with *Haemonchus contortus*. (2011). 4 (36), 1–11.
- Cabanelas, E., Díaz, P., Pérez Creo, A., Remesar, S., Prieto, A., Díaz, J. M., Dóz Baños, P. *OviSpain*. Principales parasitosis del ganado ovino. (2017), pp 4.
- Camacho, R. J., Utrera, Q. F., Hernández, H. J., Aguirre, E. G., Becerra, P. F., Fernández, M. E., Zambrano, G. M., Pérez, R. A. *Brazilian Journal of Animal and Environmental Research*, Prevalencia de parasitosis gastrointestinales en dos épocas del año, en ovinos de pelo procedentes del sureste mexicano / Prevalence of gastrointestinal parasitism in two yearly epochs, in hairy ovines of the mexican southeast. (2021). 4(4), 4898–4907. <https://doi.org/10.34188/bjaerv4n4-008>

- Cardona, M. F., & Pacheco, L. M. (2021). Evaluación *in vitro* de la inhibición de eclosión de huevos de nematodos ciathostominae, del extracto etanólico de corteza de *Gliricidia sepium*. Tesis de Licenciatura de la Universidad de Ciencias Ambientales y Aplicadas.
- Carson, A., Reichel, R., Bell, S., Collins, R., Smith, J. and Bartley, D. *Veterinary Record, Haemonchus contortus: an overview.* (2023), 192: 26-28. <https://doi.org/10.1002/vetr.2613>
- Cepeda, M. E. R. (2017). Estudio parasitológico de nematodos gastrointestinales en ovinos del municipio de Ubaté, Cundinamarca. Tesis de Licenciatura de la Universidad Pedagógica y Tecnológica De Colombia. <http://repositorio.uptc.edu.co/handle/001/2312>
- Charlier, J., Rinaldi, L., Musella, V., Ploeger, H., Chartier, C., Vineer, H. R., Hinney, B., Von Samson-Himmelstjerna, G., Băcescu, B., Mickiewicz, M., Mateus, T. L., Valladares, M. M., Quealy, S., Azaizeh, H., Sekovska, B., Akkari, H., Petkevičius, S., Hektoen, L., Höglund, J., Morgan, E.R., Bartley, D.J., & Claerebout, E. *Preventive Veterinary Medicine.* Initial assessment of the economic burden of major parasitic helminth infections to the ruminant livestock industry in Europe. (2020). 182, 105103. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2020.105103>.
- Chávez-Espinoza, M., Cantú-Silva, I., González-Rodríguez, H., & Montañez-Valdez, O. D. *Revista MVZ Córdoba*, Sistemas de producción de pequeños rumiantes en México y su efecto en la sostenibilidad productiva. (2022), 27(1), 2022. <https://doi.org/10.21897/rmvz.2246>
- Chen, H., Hu, B., Zhao, L., Shi, D., ella, Z., Huang, X., & Niu, X., *Biol de plantas tropicales.* Análisis de Expresión Diferencial de Genes de Referencia en Piña (*Ananas comosus* L.) durante el Desarrollo Reproductivo y Respuesta al Estrés Abiótico, Estímulos Hormonales (2019). 12, 67–77. <https://doi.org/10.1007/s12042-019-09218-2>
- Chica, D. (2018). Manejo agronómico del cultivo de piña (*Ananas comosus*), variedad MD2 en el Ecuador. (Tesis de Licenciatura). Universidad Técnica de Babahoyo, Facultad de Ciencias Agropecuarias.
- Collazo-Preciado, G., López-Rodríguez, A., Pineda-Lucatero, J., López-Rodríguez, L., & Macedo-Barragán, R. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú.* Eficacia de ivermectina y sulfóxido de albendazol para el control de

- nematodos gastrointestinales en ovejas Pelibuey. (2023), 34 (2), e23533. Publicación electrónica del 28 de abril de 2023. <https://dx.doi.org/10.15381/rivep.v34i2.23533>
- Crook, E. K., O'Brien, D.J., Howell, S.B., Storey, B.E., Whitley, N.C., Burke, J.M., & Kaplan, R.M. *Small Ruminant Research*. Prevalence of anthelmintic resistance on sheep and goat farms in the mid-Atlantic region and comparison of in vivo and in vitro detection methods. (2016). Vol. 143. pp. 89-96. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2016.09.006>.
- Cruz T. A. (2020). Identificación de ovinos pelibuey resistentes a la infección por *Haemonchus contortus* en función de parámetros inmunitarios (Tesis de doctorado). Colegio de postgraduados.
- Daiba, A. R., Kagira, J. M., Kimotho, J. & Maina, N. *Revista veterinaria del mundo*, Eficacia antihelmíntica in vitro de bromelina nanoencapsulada contra nematodos gastrointestinales de cabras en Kenia. (2022). 12 (1), 95-104.
- de Cezaro, M. C., Tvarijonaviciute, A., Tecles, F., Céron, J. J., Eckersall, D. P., Ferreira, J. C., & Schmidt, E. M. *Veterinary parasitology*. Changes in biochemical analytes in calves infected by nematode parasites in field conditions. (2016). 219, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.01.018>
- Domingues, L. F., Giglioti, R., Feitosa, K. A., Fantatto, R. R., Rabelo, M. D., de Sena Oliveira, M. C., Bechara, G. H., de Oliveira, G. P., Barioni J., W., & de Souza C. A. *Parasitología veterinaria*. Evaluación in vitro e in vivo de la actividad de la piña (*Ananas comosus*) sobre *Haemonchus contortus* en ovejas Santa Inês. (2013). 197 (1-2), 263–270. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.04.031>
- Doyle. S., Laing, R., Bartley, D., Britton, C., Chaudhry, U., Gilleard, J., Holroyd, N., Mable, B., Maitland, K., Morrison, A., Tait, A., Tracey, A., Berriman, M., Devaney, E., Cotton, J., & Sargison, N. *Genome Biology and Evolution*. A Genome Resequencing-Based Genetic Map Reveals the Recombination Landscape of an Outbred Parasitic Nematode in the Presence of Polyploidy and Polyandry, (2018). Vol. 10, pp. 396–409. <https://doi.org/10.1093/gbe/evx269>
- El- Ashram, S., Nasr, I. A., El- Kemary, M., Mehmood, R., Hu, M., & Suo, X. *Parasitology International*. Early and late gene expression profiles of the ovine mucosa in response to *Haemonchus contortus* infection employing Illumina RNA-SEQ technology. (2017), 66(5), 681-692. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2017.05.007>

- Ensuncho, H. C., Castellano, C. A., Maza, Á. L., Bustamante, Y. M., & Vergara G. O. *Revista Científica*. Prevalencia y grado de infección de nematodos gastrointestinales en ovinos de pelo en pastoreo de cuatro municipios de Córdoba, Colombia. (2014), XXIV (5),414-420. ISSN: 0798-2259. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=95932260005>.
- Flay, K. J., Hill, F. I. y Muguero, D. H. *Animals*. Una revisión: Infección por *Haemonchus contortus* en sistemas de producción ovina basados en pastos, con especial atención a la patogénesis de la anemia y los cambios en los parámetros hematológicos. (2022), 12 (10), 1238. MDPI AG. Obtenido de <http://dx.doi.org/10.3390/ani12101238>
- Flores-Villa, E., Sáenz-Galindo, A., Castañeda-Facio, A., & Narro-Céspedes, R. *Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, Romero (Rosmarinus officinalis L.): su origen, importancia y generalidades de sus metabolitos secundarios. (2020). 23, e20200266. doi: <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2020.0.266>
- Gaudin, E., Costes-Thiré, M., Villalba, J.J., Hoste, H., Gerfault, V., y Ginane, C. *Animal*. Relative abilities of young sheep and goats to self-medicate with tannin-rich sainfoin when infected with gastrointestinal nematodes. (2019). Vol. 13, Issue 7, pp. 1498-1507, ISSN 1751-7311, <https://doi.org/10.1017/S175173111800304X>
- Gómez, Y., & Ríos-Rojas, L. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*. Caracterización del trastorno “mal de cintura” de piña MD2 en condiciones agroclimáticas de zona plana del Valle del Cauca, Colombia. (2020). 14 (2), 153-167. <https://doi.org/10.17584/rcch.2020v14i2.10735>
- González-Reyna, A., Martínez-González, J., Hernández-Meléndez, J., Lucero-Magaña, F., Castillo-Rodríguez, S., Vásquez-Armijo, J., & Parra-Bracamonte, G. *Ciencia Agropecuaria*, Reproducción de ovinos de pelo en regiones tropicales de México. (2020), (31), 182-199
- Guerrero González, M. G. (2018). Efecto de un antiparasitario herbolario para el control de parásitos gastrointestinales en ovinos en pastoreo (tesis de maestría). Universidad Autónoma de San Luis Potosí.
- Hernández, A. J., Zaragoza, B. A., López, R. G., Peláez, A. A., Olmedo, J. A., & Rivero, P. N. *Abanico veterinario*. Actividad antibacteriana y sobre nematodos

- gastrointestinales de metabolitos secundarios vegetales: enfoque en Medicina Veterinaria. (2018). 8(1), 14-27. <https://doi.org/10.21929/abavet2018.81.1>
- Hernández, H. J. E., Camacho, R. J. C., Rodríguez, C. J. D., Robles, R. J. M., & Rodríguez, C. E. L. *Revista Mexicana de Agronegocios*. Existencia de fasciolosis ovina y caprina que afectan la producción en San José Chiapas, Puebla. (2018), 42, 843-853.
- Hernández, V. D., Sánchez, V. E., Gómez, D. W., & Martínez, G. C. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*. Caracterización productiva y socioeconómica del sistema de producción ovina, en un área natural protegida de México. (2019) 10(4), 951-965. doi: <https://doi.org/10.22319/rmcp.v10i4.4470>
- Hernández-Marín, J. A., Valencia-Posadas, M., Ruíz-Nieto, J. E., Mireles-Arriaga, A. I., Cortez-Romero, C., & Gallegos-Sánchez, J. *Agro Productividad*, Contribución de la ovinocultura al sector pecuario en México. (2018). 10(3). <https://revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/975>
- Herrera, H. J. G., Álvarez, F. G., Bárcena, G. R., & Núñez, A. J. M. *Acta universitaria*, Caracterización de los rebaños ovinos en el sur de Ciudad de México, México. (2019)., 29, e2022. <https://doi.org/10.15174/au.2019.2022>
- Hikal, W., Mahmoud, A., Said-Al Ahl, H., Bratovic, A., Tkachenko, K., Kačániová, M. y Rodriguez, R. *Revista Abierta de Ecología*, Piña (*Ananas comosus* L. Merr.), Flujos de residuos, caracterización y valorización: una descripción general. (2021), 11, 610-634. doi: [10.4236/oje.2021.119039](https://doi.org/10.4236/oje.2021.119039).
- Hoste, H., Martínez-Ortiz-De-Montellano, C., Manolaraki, F., Brunet, S., Ojeda-Robertos, N., Fourquaux, I., Torres-Acosta, J. F., & Sandoval-Castro, C. A. *Veterinary parasitology*. Direct and indirect effects of bioactive tannin-rich tropical and temperate legumes against nematode infections. (2012), 186(1-2), 18–27. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.11.04>
<https://doi.org/10.17533/udea.vitae.v28n1a345215>
- Ibarra, E. O., Ramírez, G. H., & Ibarra, I. H. O., *Boletín de Ciencias Agropecuarias del ICAP*, Composición nutricional y compuestos fitoquímicos de la piña (*Ananas comosus*) y su potencial emergente para el desarrollo de alimentos funcionales. (2021) 7: 24-28. doi: <https://doi.org/10.29057/icap.v7i14.7232>.

- Jaramillo, H. D., Vásquez, T. A., & Lesmes, R. L. *Vitae*, Efecto in vitro del extracto metanólico de *Momordica charantia* sobre la eclosión de huevos de *Haemonchus* sp. (2021). 28 (01).
- Jasso, D. G. (2022). Evaluación in vitro de extractos orgánicos de cuatro plantas contra huevos, larvas infectantes e histiotróficas, Tesis de doctorado del Colegio de postgraduados, Campus Montecillo.
- Katiki, L. M., Chagas, A. C., Bizzo, H. R., Ferreira, J. F., & Amarante, A. F. *Veterinary parasitology*. Anthelmintic activity of *Cymbopogon martinii*, *Cymbopogon schoenanthus* and *Mentha piperita* essential oils evaluated in four different in vitro tests. (2011). 183(1-2), 103–108. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.07.001>
- Khaw, K. Y., Parat, M. O., Shaw, P. N. & Falconer, J. R., *Molecules*, Solvent Supercritical Fluid Technologies to Extract Bioactive Compounds from Natural Sources: A Review. (2017). 12, 1-22. DOI: 10.3390/molecules22071186
- Llinas-Cervantes, X. (2012). Parásitos gastrointestinales del ganado bovino lechero del ejido Chametla, Baja California Sur. Tesis de Maestría de la universidad Autónoma de Baja California Sur, México.
- López-Rodríguez, G., Zaragoza-Bastida, A., Olmedo-Juárez, A., Rosenfeld Miranda, C., and Rivero-Perez, N. (2023). Nematodos gastrointestinales en ovinos y su resistencia a los antihelmínticos. Un tema en discusión en México. *Revista de Ciencia Animal de la Selva Andina* , 10 (2), 116-129. Publicación electrónica el 1 de octubre de 2023. <https://doi.org/10.36610/j.jsaas.2023.100200116>
- López, R. O. A., González, G., Osorio, A. M. M., Aranda, I. E., & Díaz, R. P. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*. Cargas y especies prevalentes de nematodos gastrointestinales en ovinos de pelo destinados al abasto. (2013), 4(2), 223-234. Recuperado en 05 de septiembre de 2023, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-11242013000200008&lng=es&tlng=es.
- Márquez, D. L. *Revista Corpoica*, Resistencia a los antihelmínticos: origen, desarrollo y control. (2003);4(1):55-57.
- Martínez, G. S., Macías, C. H., Moreno, F. L., Zepeda, G. J., Espinoza, M. M., Figueroa, M. R. & Ruiz, F. M. *Abanico Veterinario*, Análisis económico en la producción de ovinos en Nayarit, México. (2011). 1(1):37-43.

- Mayoral, P. Z., Piña, V. D., Gómez, S. M., Salazar, O. L., Aguilar, T. G., & Arellano, C. F. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*. El nematodo *Caenorhabditis elegans* como modelo para evaluar el potencial antihelmíntico de extractos de plantas. (2017), 8(3), 279-289. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v8i3.4504>
- Medina, P., Guevara, F., La O, M., Ojeda, N., & Reyes, E. *Pastos y Forrajes*. Resistencia antihelmíntica en ovinos: una revisión de informes del sureste de México y alternativas disponibles para el control de nemátodos gastrointestinales. (2014), 37(3), pp 257-263.
- Mercado-Ruiz, J. N., Tortoledo-Ortiz, O., García-Robles, J. M., Báez-Sañudo, R., García-Moreno, B. Y., Ávila-Prado, J., Corella-Salazar, D. A., Cruz-Félix, M. C., Velásquez-Jiménez, D., & Zuñiga-Martínez, B. S. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*. Calidad comercial de piña MD2 (*Ananas comosus* L.) Tratada en postcosecha con ácido 2-hidroxibenzoico. (2019), 20(2).
- Mesana, G. M. I., Santaliestra, P. A. M, Fleta, Z. J., Campo, A. M., Sañudo, A. C., Valbuena, T. I., Martínez, P., Horno, D. J., & Moreno, A. L. *Nutrición Hospitalaria*, Cambios en la composición corporal y los indicadores de riesgo cardiovascular en adolescentes españoles sanos tras dietas a base de cordero (Ternasco de Aragón) o pollo. (2013), 28 (3), 726-733. <https://dx.doi.org/10.3305/nh.2013.28.3.6382>
- Miller, J. E., Kaplan, R. M. & Pugh, D. G. *Elsevier eBooks*. Internal Parasites. En *Sheep and Goat Medicine* (2012). (Second Edition)(pp. 106-125). <https://doi.org/10.1016/B978-1-4377-2353-3.10006-X>
- Molony, V., Kent, J. E., & Robertson, I. S. *Veterinary Science*, Behavioural responses of lambs of three ages in the first three hours after three methods of castration and tail docking. (1993). pp 55, 236-45.
- 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. *Animals*. Detection of gastrointestinal nematode populations resistant to albendazole and ivermectin in sheep. (2019). 9: 775. doi: 10.3390/ani9100775.
- Moreno, F. C., Gordon, I. J., Wright, A. D., Benvenuti, M. A., & Saumell, C. A. *Archivos de medicina veterinaria*. Efecto antihelmíntico in vitro de extractos de plantas sobre larvas infectantes de nemátodos gastrointestinales de rumiantes. (2010). 42(3), pp 155-163.

- Moreno, I., Tarazona-Velásquez, R., Campos-Patiño, Y., Rodríguez-Arévalo, K. A., & Kondo, T., *Pesquisa Agropecuaria Tropical*, Prevalence of *Dysmicoccus brevipes* (Cockerell, 1893) (Hemiptera: Pseudococcidae) in MD2 pineapple crop areas in Colombia. (2021), 51, e67838. <https://doi.org/10.1590/1983-40632021v5167838>
- Mphahlele, M., Tsotetsi-Khambule, A., Moerane, R., Mashiloane, M. L., Thekiso, O. M. *Tropical Animal Health and Production*. Risk factors associated with occurrence of anthelmintic resistance in sheep of resource poor farmers in Limpopo province, South Africa. (2019), 51: 555-563. doi: 10.1007/s11250-018-1724-2.
- Munguía, X. J., Navarro, G. R., Hernández, C. J., Molina, B. R., Cedillo, C. J., & Granados, R. J. *Abanico veterinario*. Parásitos gastroentéricos, población *haemonchus contortus* en caprinos en clima semiárido de Bacum, Sonora, México. (2018). 8(3), 42-50. <https://doi.org/10.21929/abavet2018.83.2>.
- Ninamanco, C. A., Pinedo V. R., & Chávez V. A. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. Frecuencia de nematodos gastrointestinales en ovinos de tres distritos de la Región Ancash, Perú. (2021), 32 (2), e20021. <https://dx.doi.org/10.15381/rivep.v32i2.20021>
- Olmedo-Juárez, A., De Jesús-Martínez, X., Rojas-Hernández, S., Villa-Mancera A., Romero-Rosales, T., Olivares-Pérez, J. *Revista Bio Ciencias*. Eclosion inhibition of *Haemonchus contortus* eggs with two extracts of *Caesalpinia coriaria* fruits. (2022), 9, e1121. doi: <https://doi.org/10.15741/revbio.09.e1121>
- Organización de las Naciones Unidas Para la Agricultura y la Alimentación (FAO). *Faostat database* 2019. Recuperado de: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>
- Osório, T. M., Menezes, L. de M., Rosa, K. B. da, Escobar, R. F., Lencina, R. M., Maydana, G. de M., & Souza, V. Q. de. *Revista Brasileira de Desenvolvimento*, Resistência anti-helmíntica em nematódeos gastrointestinais na ovinocultura: uma revisão / Resistencia antihelmíntica en nematodos gastrointestinales en ovejas: cualquier revisión. (2020), 6 (11), 89194–89205. <https://doi.org/10.34117/bjdv6n11-368>
- Paredes, Y. (2021). Actividad antihelmíntica de *Portulaca oleracea* L. contra huevos de *Haemonchus contortus* Tesis de licenciatura de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

- Partida, J. A., Braña, D., Jiménez, H., Ríos, F. G. & Buendía, G. *México: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias*. Producción de carne ovina. (2013).
- Pérez-Alonso, N., & Jiménez, E. *Biotecnología Vegetal*. Producción de metabolitos secundarios de plantas mediante el cultivo *in vitro*. (2011). 11(4). Recuperado de <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/255/837>
- Pineda-Alegría, J. A., Sánchez-Vázquez, J. H., Gonzalez-Cortazar, M., Zamilpa, A., López-Arellano, M. E., Cuevas-Padilla, E. J., Mendoza-de-Gives, P., & Aguilar-Marcelino, L. *Journal of Medicinal Food*, The edible mushroom *Pleurotus djamor* produces metabolites with lethal activity against the parasitic nematode *Haemonchus contortus*. (2017). 20 (12) pp. 1184-1192
- Rani, D. A., Zhang, Z., Begum, N., Alim, M. A., Hu, M., & Alam, M. Z. *Infection, Genetics and Evolution*. Genetic diversity patterns of *Haemonchus contortus* isolated from sheep and goats in Bangladesh. (2019), 68, 177-184. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2018.12.021>
- Rehman, A., Nisar, A., Sakina, M., Abdul, M., Sultan, A., & Shahid, K. *Frontiers in Veterinary Science*. Nanoparticles as Alternatives for the Control of *Haemonchus contortus*: A Systematic Approach to Unveil New Anti-haemonchiasis Agents. (2021). 8:789977. doi: 10.3389/fvets.2021.789977
- Reyes-Guerrero, D., Olmedo-Juárez, A., & Mendoza-de Gives, P. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, Control y prevención de nematodosis en pequeños rumiantes: antecedentes, retos y perspectivas en México. (2021) 12(Supl. 3), 186-204. doi: <https://doi.org/10.22319/rmcp.v12s3.5840>
- Rivero, P. N., Jaramillo, C. A., Peláez, A. A., Rivas, J. M., Ballesteros, R. G., & Zaragoza, B. A. *Abanico veterinario*. Actividad antihelmíntica de la vaina de *Leucaena leucocephala* sobre nematodos gastrointestinales de ovejas (*in vitro*). (2019). , 9, e95. <https://doi.org/10.21929/abavet2019.95>
- Rodríguez, D. J. G., Arece, J., Olivares, J., Alemán, Y., & Sánchez, C. Y. *Revista de Salud Animal*. Antihelmínticos, resistencia y método FAMACHA: Experiencia cubana en ovinos. (2015), 37(1), 57-63. Recuperado en 03 de octubre de 2023, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2015000100009&lng=es&tlng=es.
- Rodríguez-Martínez, R., Mendoza-de-Gives, P., Aguilar-Marcelino, L., López-Arellano, M. E., Gamboa-Angulo, M., Rosas-Saito, G. H., Reyes-Estébanez,

- M., García-Rubio, V. G., BioMed, *In vitro* lethal activity of the nematophagous fungus *Clonostachys rosea* (Ascomycota: Hypocreales) against nematodes of five different taxa. (2018). *Research International* 2018:3501827. ISSN: 2314-6133. <https://doi.org/10.1155/2018/3501827>
- Rojas, H. S., Gutierrez, S. I, Olivares, P. J., Valencia, A. M. T. *Revista Electrónica Veterinaria*. Prevalencia de nematodos gastrointestinales en ovinos en pastoreo en la parte alta del municipio de Cuetzala del Progreso, (2007), VIII(9). Disponible en: http://www.agronet.gov.co/www/htm3b/public/ENA/ENA_2003.pdf
- Salgado-Moreno S., Carrillo-Díaz F., Escalera-Valente F., & Delgado-Camarena C., *Abanico Veterinario*, Pruebas para identificar ovinos resistentes a parásitos gastrointestinales en San Pedro Lagunillas Nayarit. (2017) 7(3):63-71.
- Saminathan, M., Gopalakrishnan, A., Latchumikanthan, A., Milton, A. A. P., Aravind, M., Dhama, K., Singh, R., *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*, Histopathological and Parasitological Study of Blood – Sucking *Haemonchus contortus* infección in Sheep. (2015) Sci. 3
- Santos, D. I., Martins, C. F., Amaral, R. A., Brito, L., Saraiva, J. A., Vicente, A. A., & Moldão-Martins, M. *Molecules*. Pineapple (*Ananas comosus* L.) By-Products Valorization: Novel Bio Ingredients for Functional Foods. (2021). 26(11), 3216. <https://doi.org/10.3390/molecules26113216>
- Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER). La ovinocultura una actividad muy arropadora. (29 de noviembre de 2017). <https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/la-ovinocultura-una-actividad-muy-arropadora>
- Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER). Piña Mexicana. Planeación Agrícola Nacional 2017-2030. (2017) Recuperado de: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/257084/Potencial-Pi_a.pdf
- Selemon, M. *Journal of Veterinary*. Review on control of *Haemonchus contortus* in sheep and goat. (2018). *Medicine and Research*
- Sepúlveda, V. J., Torres, A. J., Sandoval, C. C., Martínez, P. J., & Chan, P. J. *Journal of the Selva Andina Animal Science*, La importancia de los metabolitos secundarios en el control de nematodos gastrointestinales en ovinos con énfasis en Yucatán, México. (2018). 5(2), 79-95.

- Sepúlveda-Vázquez, J., Torres-Acosta, J. F., Sandoval-Castro, C. A., Martínez-Puc, J. F., & Chan-Pérez, J. I.. *Journal of the Selva Andina Animal Science*. La importancia de los metabolitos secundarios en el control de nematodos gastrointestinales en ovinos con énfasis en Yucatán, México. (2018), 5(2), 79-95., http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S231125812018000200004&lng=es&tlng=es
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2020). Resumen concentrado nacional de la producción pecuaria. Obtenido de: http://infosiap.siap.gob.mx/repoAvance_siap_gb/pecConcentrado.jsp
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2022). Cierre de la producción agrícola. Obtenido de: <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>
- Soca, M., Roque, E., & Soca, M. *Pastos y Forrajes*. Epizootiología de los nemátodos gastrointestinales de los bovinos jóvenes. (2005), 28(3), 175-185.
- Stepek, G., Buttle, D.J., Duce, I.R., Lowe, A., & Behnke, J.M., *Parasitology*. Assessment of the anthelmintic effect of natural plant cysteine proteinases against the gastrointestinal nematode, *Heligmosomoides polygyrus*, in vitro. (2005). 130, 203–211.
- Stepek, G., Lowe, A.E., Buttle, D.J., Duce, I.R., & Behnke, J.M., *Parasitology*. Anthelmintic action of plant cysteine proteinases against the rodent stomach nematode, *Protospirura muricola*, in vitro and in vivo. (2007). 134, 103–112.
- Tong, Z., He, W., Fan, X., & Guo, A. *Frontiers in veterinary science*. Biological Function of Plant Tannin and Its Application in Animal Health. (2022), 8, 803657. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.803657>.
- Torres, J., Aguilar, A., *McGrawHill*. Control, Prevención y Erradicación de la Nematodiasis Gastrointestinal en Rumiantes. Enfermedades de Importancia Económica en Mamíferos Domésticos. (2005).161-176.
- Torres-Acosta, J., & Hoste, H. *Small Ruminant Research*. Alternative or improved methods to limit gastro-intestinal parasitism in grazing sheep and goats. (2008); 77: 159-173. <http://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2008.03.009>.
- Uriza-Ávila, D.E., Torres-Ávila, A., Aguilar-Ávila, J., Santoyo-Cortés, V.H., Zetina-Lezama, R. y Rebolledo-Martínez, A. (2018). La piña mexicana frente al reto de la innovación. Avances y retos en la gestión de la innovación. Colección Trópico húmedo. Chapingo, Estado de México: UACH.

- Van Dijk, J., & Morgan, E. R. *Parasitology*. The influence of water on the migration of infective trichostrongyloid larvae onto grass. (2011), 138(6), 780-788. <https://doi.org/10.1017/s0031182011000308>
- Vázquez P. V., Flores, C. J., Santiago, V. C., Herrera, R. D., Palacios, F. A., Liébano, H. E., & Pelcastre, O. A. *Técnica Pecuaria en México*. Frecuencia de nemátodos gastroentéricos en bovinos de tres áreas de clima subtropical húmedo de México. (2004), 42 (2), 237-245. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61342209>.
- Vázquez, V. M. 2000. Agentes etiológicos y ciclos de vida de los nemátodos gastrointestinales. En: Memorias 1er. Curso Internacional “Nuevas perspectivas en el diagnóstico y control de nemátodos gastrointestinales en pequeños rumiantes”. (Eds. F. Torres, A. Aguilar & A. Ortega). Yucatán, México. p. 1
- Zajíčková, M., Prchal, L., Navrátilová, M., Vodvarková, N., Matoušková, P., Vokál, I., Nguyen, L. T. & Skálová, L. *Veterinary Research*. Sertraline as a new potential anthelmintic against *Haemonchus contortus*: toxicity, efficacy, and biotransformation. (2021). 52, 143. <https://doi.org/10.1186/s13567-021-01012-x>
- Zaragoza, B. A., Rodríguez, S. E., Valladares, C. B., Rivas, J. M., Herrera, C. A., & Rivero, P. N. *Abanico veterinario*. Cassia fistula como tratamiento alternativo contra nemátodos gastrointestinales de ovino. (2019). 9, e92. Epub 05 de marzo de 2021. <https://doi.org/10.21929/abavet2019.92>
- Zvinorova, P. I., Halimani, T. E., Muchadeyi, F. C., Matika, O., Riggio, V., & Dzama, K. *Small Ruminant Research*, Prevalence and risk factors of gastrointestinal parasitic infections in goats in low-input low-output farming systems in Zimbabwe. (2016). Vol. 143, pp. 75-83, ISSN 0921-4488, <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2016.09.005>.

CAPÍTULO 1.

***Ananas comosus*: An alternative against *Haemonchus contortus* resistant to benzimidazoles**

Maritza Arcelia Rivas-Zarco^a, Nallely Rivero-Pérez^b, Manasés González-Cortazar^c, Agustín Olmedo-Juárez^d, Gilberto Ballesteros-Rodea^a, Camelia Alejandra Herrera-Corredor^a, Adrian Zaragoza-Bastida^{b*}

^aFacultad de Agronomía y Veterinaria. Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Carretera San Luis Potosí-Matehuala, km 14.5, Ejido Palma de la Cruz, Soledad de Graciano Sánchez, C.P. 78321, San Luis Potosí, S.L.P., México.

^bÁrea Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Instituto de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Rancho Universitario Av. Universidad km 1, A.P. 32 CP.43600, Hidalgo, México.

^cCentro de Investigación Biomédica del Sur, Instituto Mexicano del Seguro Social, Argentina No. 1. Col. Centro, CP 62790 Xochitepec, Morelos, México

^dCentro Nacional de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad (CENID SAI-INIFAP), Carrtera Federal Cuernavaca-Cuautla No. 8534/Col. Progreso, Jiutepec C.P. 62550, Morelos, Mexico

*corresponding autor: adrian_zaragoza@uaeh.edu.mx

SUMMARY

The objective was to determine the anthelmintic activity (in vitro) of the hydroalcoholic extract and fractions of the pineapple crown against *H. contortus* (benzimidazole-resistant strain) and to characterize the compounds responsible for this activity. For the hatching inhibition (EHI) test of the hydroalcoholic extract of pineapple crown (HEPC), an organic fraction (OFPC) and an aqueous fraction (AFPC), controls were evaluated using ten concentrations (200 - 0.3 mg/ml). The positive controls were thiabendazole 0.1 mg/ml and ivermectin 5 mg/ml and the negative control was distilled water. The concentrations evaluated in the HEPC larval mortality (ML) test ranged from 200 to 12.5 mg/ml, and for fractions from 100 to 12.5 mg/ml, the same positive and negative controls were used as in the ovicidal lethality test. OFPC was most effective in the EHI test, for which it was subjected to chromatographic fractionation, where it revealed the presence of chlorogenic acid and an analog thereof, compounds to which pineapple crown nematicidal activity is attributed to variety MD-2. In the ML evaluation, HEPC obtained the highest efficacy

with 34.9% at 200 mg/ml, surpassing thiabendazole at 0.1 mg/ml as it did not affect the L3 larvae of *H. contortus*. It was concluded that HEPC, its fractions, and subfractions have anthelmintic activity against *H. contortus* so this agro-industrial residue could be a sustainable control option against this important nematode in sheep production.

KEYWORDS

Ananas comosus, chlorogenic acid, *Haemonchus contortus*

REFLEXES

- Reduction of agroindustrial waste (pineapple crown)
- Sustainable alternatives for the nematicidal control of *Haemonchus contortus*

Introduction

The production of small ruminants in Mexico is a livestock activity of great economic importance due to the increasing demand and the benefits it generates (Bobadilla et al. 2017), however, infections caused by gastrointestinal nematodes (GINs) are one of the main threats, and limitations to production worldwide (Reyes et al. 2021). *Haemonchus contortus* is a gastrointestinal nematode that parasitizes small ruminants, belongs to the family *Trichostrongylidae* (Flay et al. 2022), has a direct life cycle, and is transmitted horizontally by ingestion of third instar larvae (L₃) during grazing (Arsenopoulos et al. 2021). Infections with this nematode are more common in tropical, subtropical, and warm temperate regions. However, it has managed to adapt to semi-arid regions due to climate change (Mungia et al. 2018). *H. contortus* has hematophagous habits, so it sucks blood from the capillaries of the walls of the abomasum of ruminants (Adduci et al. 2022), causing acute anemia, hemorrhagic gastroenteritis, edema, and even death of the animals in severe cases (Ali et al. 2021). It is considered one of the most important GINs in the world (Charlier et al. 2020) due to the high morbidity and mortality it causes, in addition to the drug resistance that has been reported for this GIN (Arsenopoulos et al. 2021). Therefore, *H. contortus* is one of the major threats to the sustainability of extensive sheep production systems due to the large economic losses it causes (Doyle et al. 2018). Conventional control of these parasites is based exclusively on the use of chemical anthelmintics, which have caused

serious problems of drug resistance and environmental impact worldwide due to their misuse (Sepúlveda et al. 2018).

Due to this problem, it has been decided to look for alternatives to control these parasites that are profitable for producers (Rivero et al. 2019) and contribute to animal welfare, care, and preservation of the environment, examples of these alternatives are paddock rotation, copper particles (Schweizer et al. 2016; Fetene and Amante 2019), biological control (Mendoza et al. 2022), selection of resistant animals (Reyes et al. 2021), nutrition (Can et al. 2022), and plant extracts with secondary metabolites with anthelmintic activity (Zaragoza et al. 2019). The use of plants with anthelmintic potential has increased significantly in recent decades, thanks to the different phytochemical compounds they possess (Olmedo et al. 2017; de Paula et al. 2019). Recently, however, research has been carried out with organic wastes generated by agroindustry (Barros et al. 2022); to take advantage of and minimize the environmental and economic impact generated by these wastes (Chaparro et al. 2021). Examples are grape pomace, as it has been shown to have 100% ovicidal activity at a concentration of 12.5 mg/ml and 100% larvicidal activity at a concentration of 3.12 mg/ml against *H. contortus* (Silva et al. 2018), and coffee pulp, of which 100% ovicidal activity has been reported against nematodes of the genera *Haemonchus* spp. and *Trichostrongylus* spp. at a concentration of 100 mg/ml (López et al. 2022).

In addition, *Ananas comosus* is a fruit of high commercial value due to its demand in the world market, it is widely cultivated in tropical and subtropical regions (Lorente et al. 2022). According to the Agri-Food and Fisheries Information Service (SIAP), it reports that in 2021 Mexico produced 1,271,520.75 tons of pineapple, of which the crown represents approximately 10 to 15% of the weight of the fruit, depending on the variety, which is discarded by agribusiness (Chaparro et al. 2021).

It has been reported that this fruit has therapeutic properties such as anti-inflammatory, anticoagulant, anticancer (Ibarra et al. 2021), antioxidant (Hossain et al. 2011; Agnes and Anusuya 2021), antimicrobial, cardioprotective, digestive and anthelmintic (Debnath et al. 2023). In addition to the above, the objective of this research was to determine the anthelmintic activity (in vitro) of the hydroalcoholic extract and fractions of the pineapple crown on *H. contortus* (benzimidazole-resistant strain) and to characterize the compounds responsible for this activity.

Materials and methods

Obtaining the hydroalcoholic pineapple crown extract

The pineapple crowns of the MD-2 variety were collected in different fruit shops in the municipality of Soledad de Graciano Sánchez, S.L.P. They were dried at room temperature, avoiding exposure to the sun, for 30 days. 200 grams of crushed fruit were mixed with 4000 ml of hydroalcoholic solution (70% water: 30% methanol) and left for 72 h at 25 °C. The extract was filtered with cotton and paper (Whatman®, Stone, UK) to remove the remaining plant material. The extract was filtered with cotton and filter paper (Whatman®, Maidstone, UK) to remove the remaining plant material. Finally, the solvent was removed in a rotary evaporator (Büchi-R-300, Flawil, Switzerland) according to the methodology described in (Rivero et al. 2016). This concentrated extract was kept refrigerated (4 °C) until phytochemical analysis and anthelmintic evaluation.

Fractionation of pineapple crown hydroalcoholic extract

The hydroalcoholic extract of pineapple crown (HEPC) was subjected to bipartition by liquid-liquid chromatography with the solvents water/ethyl acetate (1:1), from which two fractions were obtained, one organic (OFPC) and one aqueous. (AFPC). The solvent was then removed from both fractions by low-pressure distillation (Büchi-R-300, Flawil, Switzerland). Both fractions were evaluated by testing the inhibition of *H. contortus* egg hatching and larval mortality with *H. contortus* L₃ larvae.

Since OFPC was the most active fraction, it was subjected to chromatographic fractionation in an open column (20 x 600 mm) previously packed with silica gel 60 (Merck, 30 g, 70-230 mesh). n-Hexane: AcOEt was used as the mobile phase (volume of all samples was 100 ml). 5 subfractions were obtained (SF1 to SF5), which were grouped according to their chemical composition. All subfractions were concentrated by reduced pressure in a rotary evaporator (Büchi-R-300, Flawil, Switzerland), and the subfractions were evaluated only by the hatching inhibition test with *H. contortus* eggs since their best activity was determined for this test. The subfractions with the best activity (SF3, SF4, and SF5) were subjected to high-performance liquid chromatography (HPLC), which showed that these subfractions contained chlorogenic acid and a derivative thereof (Figure 1).

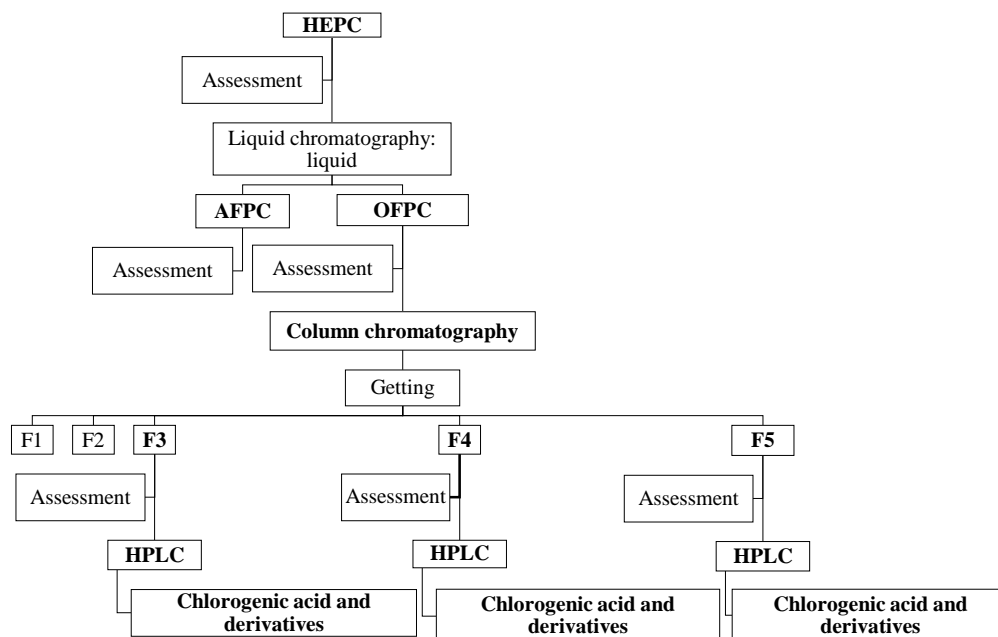


Figure 1. Schematic representation of the extraction and fractionation process of the hydroalcoholic extract of pineapple crown variety MD-2 for directed testing.

Obtaining *Haemonchus contortus* eggs

H. contortus eggs were obtained from 6 donor sheep of the Katahdin cross breed, 3 months old, which were previously infected with L₃ larvae (infective phase) of *H. contortus* (benzimidazole-resistant strain), obtained from the National Institute of Forestry, Livestock and Agronomic Research (INIFAP), at a rate of 5,000 larvae per sheep. Subsequently, fecal samples (5-10 g) were collected directly from the rectum of each of the sheep, which were transferred at a temperature of 4 °C to the bacteriology laboratory of the ICAP-UAEH, for processing and analysis. The sheep were handled following the criteria for the care and handling of experimental animals, established in the official Mexican standards NOM-051-ZOO-1995, and NOM-062-ZOO-1999, in addition to complying with the provisions of the Federal Animal Health Law.

Subsequently, the presence of *H. contortus* eggs was determined using the flotation technique and the quantification of eggs per gram of feces (EPGF) using the McMaster technique, according to the methodology of (Rivero et al. 2019). Subsequently, 30 g

of collected feces were homogenized with distilled water for the recovery of *H. contortus* eggs, which were purified according to the methodology of Von Son-de Fernex et al. 2015. Finally, the solution obtained with clean eggs was adjusted to a concentration of 150 eggs/50 µl.

Evaluation of hatching inhibition

To evaluate the inhibition of hatching of *Haemonchus contortus* eggs, a 96-well plate was used, in each of which 50 µl of a distilled water solution with 150 eggs/50 µl and 50 µl of each of the different concentrations of the hydroalcoholic extract, organic fraction and aqueous fraction (200, 100, 50, 25, 12.5, 6.2, 3.1, 1.5, 0.7 and 0.3 mg/ml), for the subfractions the concentrations evaluated were (12.50, 6.25, 3.12, 1.56, 0.78, 0.39, 0.19 and 0.09); with four replicates each, thiabendazole (0.1 mg/ml) and ivermectin (5 mg/ml) were used as positive controls and distilled water as negative control. In the case of subfractions, 3% methanol was added to the negative controls. The plates were incubated in a humid chamber at 30° C for 48 h, after which 10 aliquots of 10 µl were taken from each well to be observed under a microscope (4x objective) and, the number of hatched and unhatched eggs quantified; the percentage of EHI was calculated using the following formula:

$$\% \text{ hatching inhibition} = \frac{L1}{L1 + \text{Egg}} * 100$$

Where L1 is equal to larva 1.

Recovery of H. contortus L₃ larvae Feces collected from infected animals were mixed with polyurethane foam and distilled water to form a stool culture, which was incubated at 28°C for 17 days. At the end of this period, the L₃ larvae were recovered using the Baermann technique, and the recovered larvae were washed with a gradient of saturated saline solution and processed in a centrifuge at 3,500 rpm to remove most of the organic particles from the larvae. L₃ was then exposed to a 3% sodium hypochlorite solution to induce ecdysis. Finally, the adjustment of 150-200 larvae in 50 µl was made.

Larval mortality evaluation

The lethal effect was evaluated at the following concentrations: hydroalcoholic extract of 200 - 6.2 mg/ml, aqueous fraction of 100 - 12.5 mg/ml, and organic fraction of 100

- 12.5 mg/ml, in a 96-well polystyrene microplate. They added 50 µl of distilled water solution with 150-200 shelled larvae and 50 µl of the different concentrations; with four replicates for each concentration, the positive controls were ivermectin (5mg/ml) and thiabendazole (0.1mg/ml) and distilled water as a negative control. The plate was incubated in a humid chamber at 30° C for 72 h. At the end of this time, 10 aliquots of 10 µl were taken from each well and observed under a microscope (4x objective) and the live and dead larvae were quantified; the percentage of ML was determined using the following equation:

$$\% \text{ mortality} = \frac{\text{Dead larvae}}{\text{Total larvae}} * 100$$

Cytotoxicity evaluation of pineapple crown hydroalcoholic extract with Artemia salina

The evaluation was performed by serial dilutions in a 96-well microplate using *Artemia salina*, following the methodology of Rivero-Pérez et al. (2019). The concentrations used to evaluate the hydroalcoholic extract of the pineapple crown ranged from 200 to 1.56 mg/ml. 0.05 g of *Artemia salina* cysts were incubated in 200 ml of 3.5% artificial seawater at a temperature of 27 °C for 24 h. At the end of the incubation period, the nauplii were collected. A 50 µl suspension containing 10-15 organisms and 50 µl of each concentration to be evaluated was added to each well of the plate, with three replicates, using Tween 80 (SIGMA P1754) as a positive control. Finally, the plate was incubated at 29°C for 24 h. At the end of this time, the number of dead and live nauplii in each well was counted using a stereoscopic microscope (VE-S1). Toxicity criteria were established according to Syahmi et al. (2010), where extracts with LC₅₀ greater than 1.00 mg/ml are considered non-toxic.

Statistical analysis

To determine the effect of hydroalcoholic extract, fractions, and subfractions, an analysis of variance (ANOVA) was performed with a completely randomized design, and the comparison of means was performed using the Tukey test. A completely randomized design was used. The data obtained were analyzed by analysis of variance

(ANOVA) and comparison of means by Tukey's test ($\alpha=0.05$). The LC₅₀ and LC₉₀ values and their 95% confidence intervals were calculated by the PROBIT method using the SAS V9.0 statistical package.

Results

Hatching inhibition

The results obtained in the evaluation of the inhibition of *H. contortus* egg hatching allowed us to determine that HEPC, OFPC, and AFPC have inhibitory activity, with OFPC being the most active at a concentration of 6.2 mg/ml, without determining statistical differences significant with ivermectin and thiabendazole ($P \leq 0.05$) at concentrations 200 to 12.5 mg/ml, respectively (Table 1). However, it was observed that HEPC and OFPC showed a similar behavior between concentrations of 200 to 1.5 mg/ml. Regarding AFPC, although it presented a lower activity, there are no significant statistical differences with the positive controls at the concentration of 12.5 mg/ml (Table 1).

Table 1. Percent inhibition of *Haemonchus contortus* egg hatching by HEPC, OFPC, and AFPC

Concentration (mg/ml)	HEPC	OFPC	AFPC
200	100 ^a	100 ^a	100 ^a
100	100 ^a	100 ^a	100 ^a
50	100 ^a	100 ^a	100 ^a
25	100 ^a	100 ^a	98.2 ^a ± 0.4
12.5	100 ^a	99.5 ^a ± 0.5	97.1 ^a ± 0.4
6.2	98.3 ^b ± 0.4	98.3 ^{ab} ± 0.6	91.0 ^b ± 0.3
3.1	90.4 ^c ± 0.1	93.1 ^b ± 1	69.3 ^c ± 0.2
1.5	85.2 ^d ± 0.1	86.4 ^c ± 0.1	27.5 ^d ± 0.6
0.7	60.1 ^e ± 0.1	74.8 ^d ± 0.3	11.2 ^e ± 0.3
0.3	1.3 ^f ± 0.2	38.2 ^e ± 0.2	0.3 ^f ± 0.5
Distilled water	1.5 ^f ± 0.3	1.5 ^f ± 0.3	1.5 ^d ± 0.3
Ivermectin (5 mg/ml)	100 ^a	100 ^a	100 ^a
Thiabendazole (0.1 mg/ml)	100 ^a	100 ^a	100 ^a
<i>p-value</i>	0.0001	0.0001	0.0001

HEPC: Hydroalcoholic extract of pineapple crown (*Ananas comosus*), OFPC: Organic Fraction, AFPC: Aqueous Fraction. Different literals in the column show significant statistical differences ($P \leq 0.05$) between the evaluated treatments.

Table 1 shows that the hydroalcoholic extract of pineapple crown and the fractions derived from it showed a dose-dependent effect, with OFPC being the most active.

The chromatographic fractionation of OFPC allowed us to determine that the hatching inhibition percentages of SF1 to SF5 showed a statistically similar behavior ($P \leq 0.05$) at 12.5 mg/ml concerning the positive controls (ivermectin and thiabendazole), however, the SF5 subfraction was the most active, since no significant statistical differences were observed with the positive controls at the concentration of 0.78 mg/ml, followed by SF3 at a concentration of 1.56 mg/ml and SF4 at 3.12 mg/ml (Table 2).

Table 2. Percent inhibition of *Haemonchus contortus* egg hatching of SF1, SF2, SF3, SF4

Concentration (mg/ml)	SF1	SF2	SF3	SF4	SF5
12.50	96.3 ^a ± 0.6	100 ^a	100 ^a	98.4 ^{ab} ± 0.8	100 ^a
6.25	79.3 ^b ± 0.1	100 ^a	99.6 ^a ± 0.6	97.7 ^{ab} ± 0.8	100 ^a
3.12	70.6 ^c ± 0.2	99 ^a ± 0.2	99.6 ^a ± 0.7	97.1 ^{ab} ± 0.7	100 ^a
1.56	61.6 ^d ± 0.6	96.6 ^b ± 0.4	97.2 ^a ± 0.4	95.2 ^b ± 0.6	98.7 ^a ± 0.7
0.78	18.6 ^e ± 0.6	86.6 ^c ± 0.4	92.3 ^b ± 0.7	81.8 ^c ± 0.3	94.9 ^{ab} ± 0.8
0.39	7.8 ^f ± 0.3	68.4 ^d ± 0.2	67 ^c ± 0.4	63.4 ^d ± 0.2	89.6 ^b ± 0.7
0.19	7 ^f ± 0.3	30 ^e ± 0.3	60.8 ^d ± 0.9	52.6 ^e ± 0.2	66.4 ^c ± 0.4
0.09	7 ^f ± 0.3	13.9 ^f ± 0.6	47.3 ^e ± 0.2	41.1 ^f ± 0.2	60.2 ^c ± 0.8
Distilled water	2 ^f ± 0.1	2 ^g ± 0.1	2 ^f ± 0.1	2 ^g ± 0.1	2 ^d ± 0.1
Ivermectin (5 mg/ml)	100 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a
Thiabendazole (0.1 mg/ml)	100 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a
Methanol 3%	1.4 ^f ± 0.4	1.4 ^g ± 0.4	1.4 ^f ± 0.4	1.4 ^g ± 0.4	1.4 ^d ± 0.4
<i>p-value</i>	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001

SF1: Sub-fraction 1, SF2: Sub-fraction 2, SF3: Sub-fraction 3, SF4: Sub-fraction 4, SF5: Sub-fraction 5. Different literals in the column show significant statistical differences ($P \leq 0.05$) between the treatments evaluated.

In the PROBIT analysis, the lowest LC₅₀ was found to be 0.4 mg/ml corresponding to OFPC, followed by the LC₅₀ of HEPC at a concentration of 0.7 mg/ml, and for AFPC an LC₅₀ of 2.2 mg/ml (Figure 2). The LC₉₀ was 1.8 mg/ml for HEPC and OFPC and 6.9 mg/ml for AFPC. Regarding the subfractions, the lowest LC₅₀ was 0.07 mg/ml for SF5, but SF3 and SF4 showed the same LC₅₀ of 0.1 mg/ml (Figure 3).

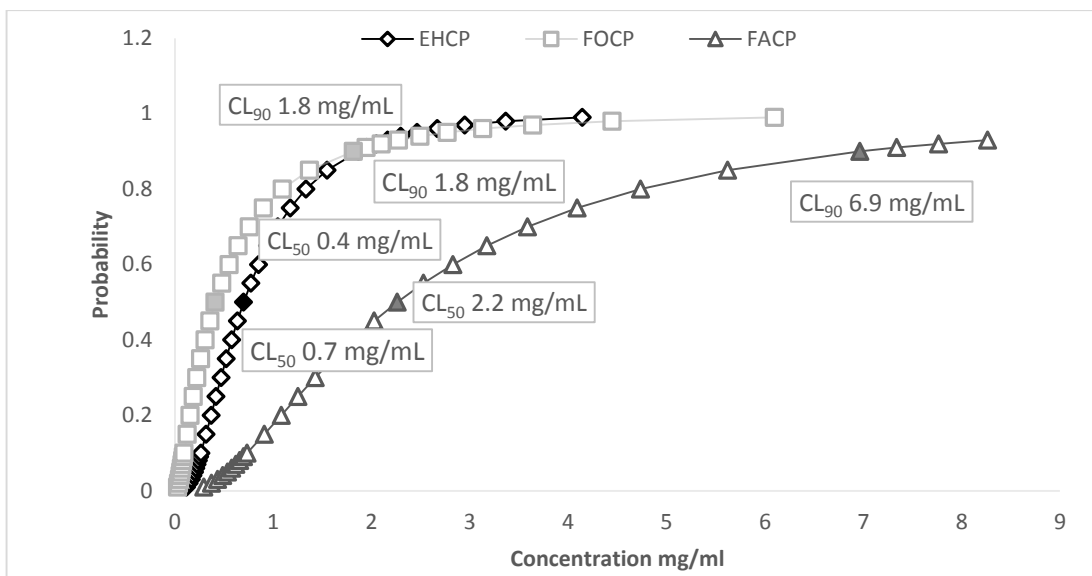


Figure 2. Lethal concentrations of CL₅₀ and CL₉₀ of HEPC, OFPC, and AFPC on *Haemonchus contortus* eggs

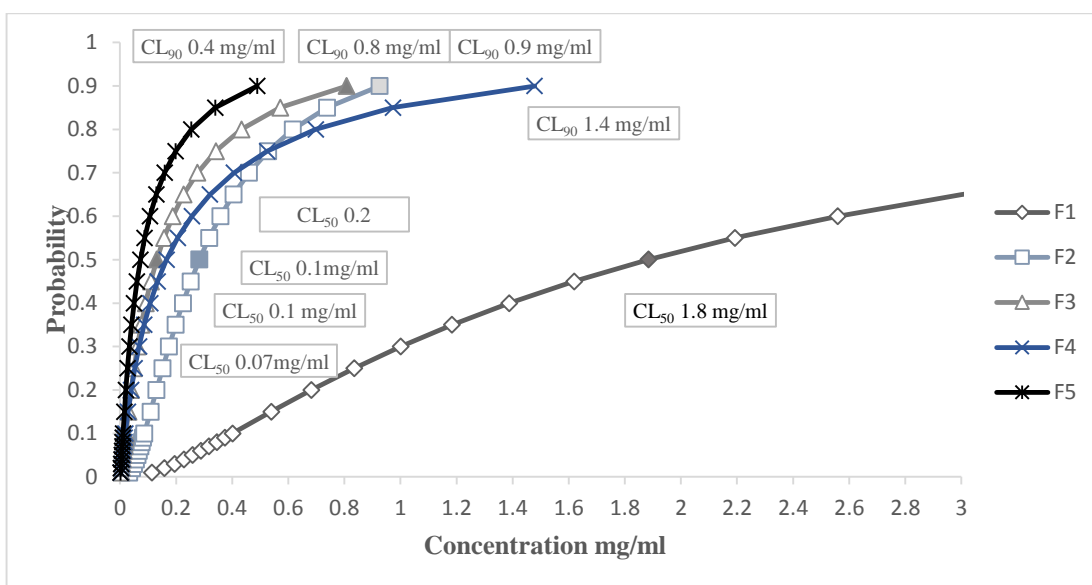


Figure 3. Lethal concentration CL₅₀ and CL₉₀ of F1, F2, F3, F4 and F5 on *Haemonchus contortus* eggs

Fractionation of pineapple crown hydroalcoholic extract

HPLC analysis of the three subfractions derived from the OFPC chromatographic fractionation indicated that the active fractions SF3, SF4, and SF5 were composed of chlorogenic acid and an analog of chlorogenic acid.

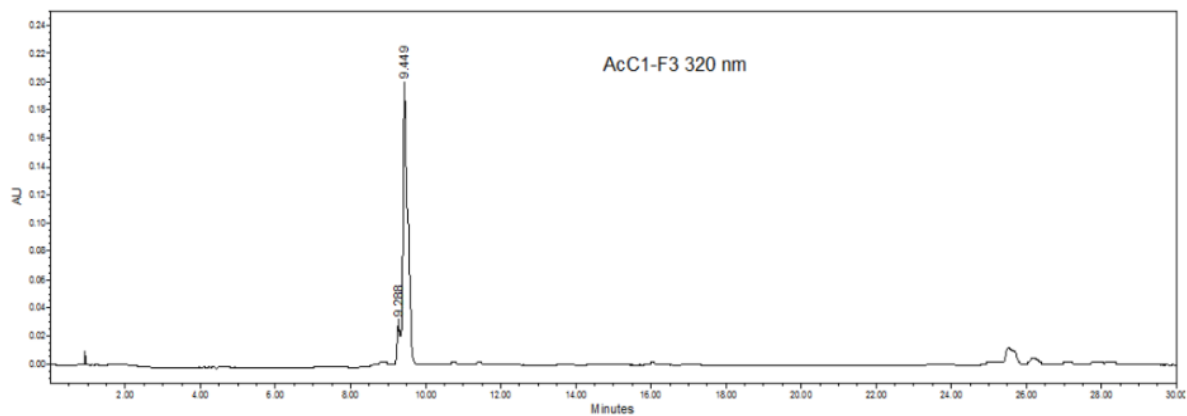


Figure 4. HPLC chromatogram of subfraction 3

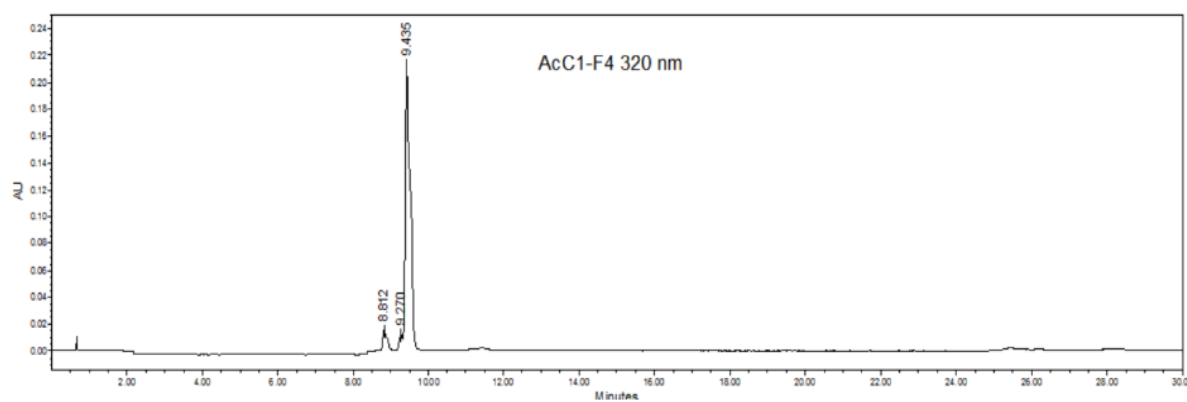


Figure 5. HPLC chromatogram of sub-fraction 4

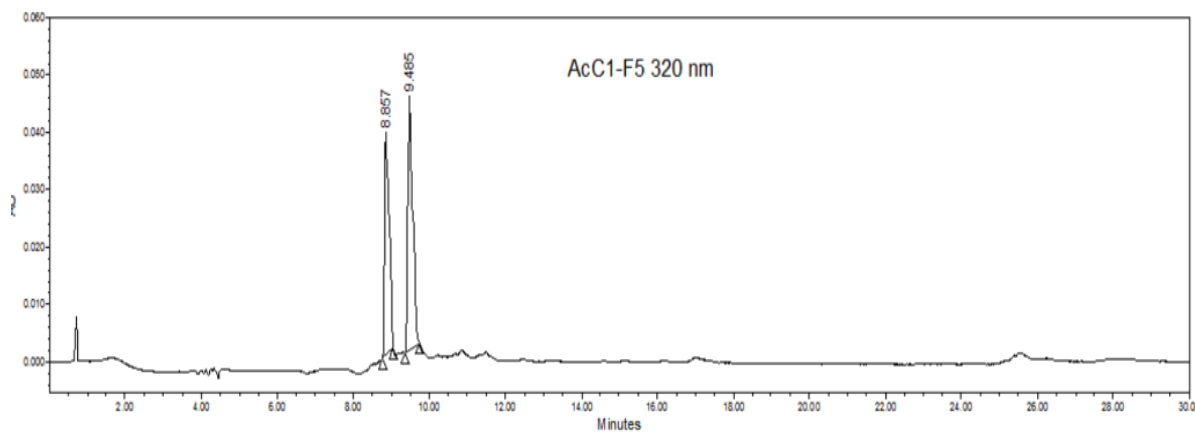


Figure 6. HPLC chromatogram of sub-fraction 5

Larval mortality

Regarding larval mortality (ML), the highest activity was obtained in HEPC at concentrations of 200, 100, 50, and 25 mg/ml with percentages of 34.9%, 27.3%, 26.8%, and 25.2% respectively, statistical analysis did not show relevant differences ($P= 0.0001$) between them, however, a higher percentage of mortality was observed compared to the positive control thiabendazole at 0.1 mg/ml ($P= 0.0001$). In addition, AFPC showed an ML of 20.5%, exceeding the 0% ML of thiabendazole at 0.1 mg/ml ($P= 0.0001$). Ivermectin at 5 mg/ml was effective against 100% of the larvae.

Table 3. Percentage of larval mortality in L₃ of *Haemonchus contortus* of the HEPC, OFPC, and AFPC

Concentration (mg/ml)	HEPC	OFPC	AFPC
200	34.9 ^b ± 0.7	-	-
100	27.3 ^{bc} ± 0.6	6.2 ^b ± 0.3	20.5 ^b ± 0.2
50	26.8 ^{bc} ± 0.8	5.1 ^{bc} ± 0.2	8.4 ^c ± 0.2
25	25.2 ^c ± 0.7	4.10 ^{cd} ± 0.2	4.2 ^d ± 0.1
12.5	11.6 ^d ± 0.6	2.9 ^d ± 0.4	3 ^d ± 0.3
Distilled water	3.9 ^{de} ± 0.3	3.9 ^{cd} ± 0.3	3.9 ^d ± 0.3
Ivermectin (5 mg/ml)	100 ^a	100 ^a	100 ^a
Thiabendazole (0.1 mg/ml)	0 ^e ± 0.6	0 ^e ± 0.6	0 ^e ± 0.6
<i>p-value</i>	0.0001	0.0001	0.0001

(-) Data not analyzed, HEPC: Hydroalcoholic Extract of *Ananas comosus*, OFPC: Organic Fraction, AFPC: Aqueous Fraction. Different literals in the column show significant statistical differences ($P \leq 0.05$) between the evaluated treatments.

Cytotoxicity evaluation of pineapple crown hydroalcoholic extract with Artemia salina

The results obtained for the LC₅₀ and LC₉₀ of HEPC were 3.6 and 7.9 mg/ml, which indicates that EHCO is not toxic (Figure 7).

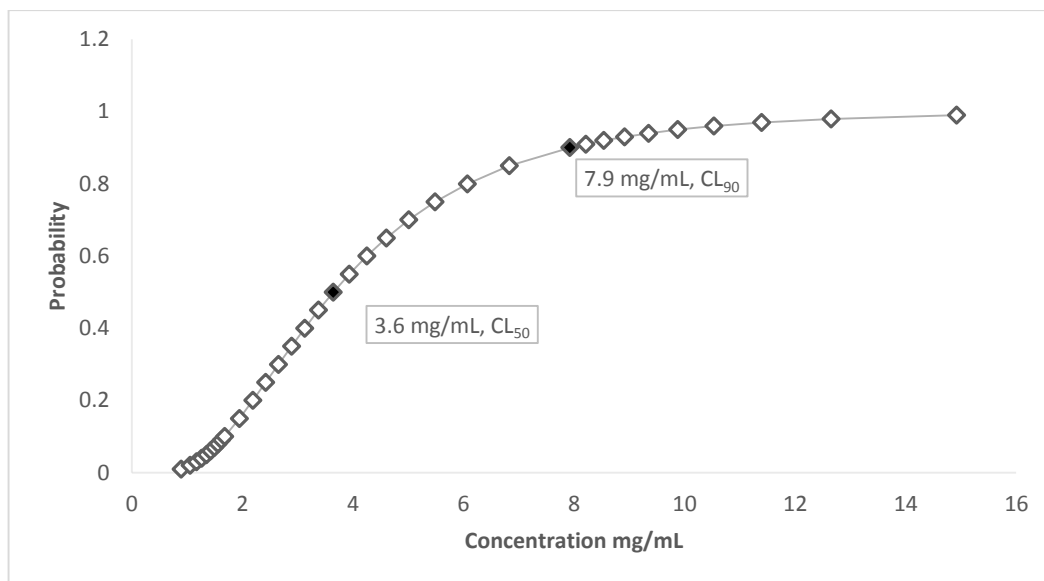


Figure 7. Evaluation of cytotoxicity (CL₅₀ and CL₉₀) with *Artemia salina* from HEPC

Discussion

Gastrointestinal nematodes are one of the main diseases that affect the production of small ruminants worldwide, *H. contortus* is one of the most pathogenic, prevalent, and dominant in terms of infection intensity, treatment with synthetic anthelmintics is the indicated method to control GIN infections, however, currently due to the phenomenon of resistance to anthelmintics that different populations of GIN have developed, including *H. contortus*, the need arises to look for alternatives for its control, in this regard medicinal plants are an alternative for the search for new molecules that can be applied in the control of *H. contortus* (Cortes-Morales et al. 2019).

In the present study, the anthelmintic activity of the hydroalcoholic extract of pineapple crown (HEPC) was determined, having its best activity on the inhibition of hatching of *H. contortus* eggs resistant to benzimidazoles (100% at 12.2 mg/ml). The chemical fractionation of the extract allowed us to obtain the organic fraction (OFPC), which presented the best ovicidal activity (93.1% at 3.1 mg/ml), and in the sub-fractionation of the OFPC, SF5 was identified with an inhibitory activity of 89.6 % at a concentration of 0.39 mg/ml. The presence of chlorogenic acid and a derivative of the latter was identified in the SF5 fraction.

In this regard, Hernández-Villegas et al. (2017) found that the aqueous extract of pineapple leaves had an ovicidal activity of 96% against *H. contortus* eggs at a

concentration of 600 µg/ml, obtaining better results than those reported in the present investigation; however, it is important to highlight that the strain used by the cited authors did not show resistance to benzimidazoles.

Recently, Rodrigues et al. (2020) evaluated in vitro the methanolic extract of BRS Boyra pineapple leaves and its fractions against *Haemonochus* spp., *Oesophagostomum* spp. and *Trichostrongylus* spp. obtained from naturally infected goats and determined that at 5 mg/ml the extract obtained 82.4% of EHI, a concentration higher than that determined in the present study, since the organic fraction of the present study at a concentration of 5 mg/ml presented a 99.4%, however, the results are similar to those of the aqueous fraction (73.1% of EHI at 5 mg/ml), the differences obtained in the results could be associated with the methodology used or with the variety of fruit used, even though the methodologies used were different, these results confirm the anthelmintic effect of *A. comosus* on GINs of importance in sheep and goat farming.

As mentioned above, the presence of chlorogenic acid and its analog was identified in SF3, SF4, and SF5. In this regard, Jasso (2017) evaluated a hydroalcoholic extract of *Tagetes filifolia*, which obtained a 99% hatching inhibition at 10 mg/ml. The extract was subjected to biodirected fractionation, and as a result, 11 fractions were obtained, of which the most active were subjected to a phytochemical identification analysis, associating the hatching inhibition against *H. contortus* eggs with the presence of chlorogenic acid against *H. contortus* eggs.

Similarly, Küpeli et al. (2021) reported the phytochemistry of the methanolic extract of *Jasminum fruticans* L. and identified p-coumaric acid, gallic acid, caffeic acid, ferulic acid, and chlorogenic acid as the main compounds, highlighting the latter for its anthelmintic potential, which is consistent with the results obtained in this study.

Regarding the CL₅₀ and CL₉₀, (Domingues et al. 2013) found that the aqueous extract of *Ananas comosus* leaves presented a CL₅₀ in the EHI of 31 mg/ml and a CL₉₀ of 81 mg/ml, concentrations higher than those obtained in the present study, since the CL₅₀ and CL₉₀ of the HEPC were 0.7 and 1.8 mg/ml, respectively.

For his part, Jasso evaluated chlorogenic acid as a pure compound and obtained a CL₅₀ of 0.24 mg/ml on the inhibition of *H. contortus* eggs, when compared with the CL₅₀ of SF5 (0.07 mg/ml), the latter was better, which could be explained by the fact that in

SF5, in addition to chlorogenic acid, there is a derivative of it that could enhance the effect on hatching inhibition (Jasso 2017).

In terms of larval mortality (ML), the HEPC showed a mortality of 34.9% at 200 mg/ml and the AFPC showed an ML of 20.5% at 100 mg/ml, both exceeding the effect of thiabendazole at 0.1 mg/ml (0%). In this regard, Sujon et al (2008) studied the hydroalcoholic extract of pineapple leaves and determined a larvicidal activity between 60% and 100% on adult larvae obtained directly from the gastrointestinal tract of naturally infected goats. These results are superior to those obtained in the present study, but there was no evidence of resistance to any drug. These data cannot be compared with the present study because different methods were used to extract the hydroalcoholic extract and to determine the ML. However, they allow us to verify the larvicidal activity of *Ananas comosus*. In this regard, Cáceres et al. (2013) carried out an investigation with pineapple leaves as a nutritional supplement for hair sheep in grazing naturally infected with GINs, achieving a reduction of up to 28% in the amount of EPGF, in turn, Ramírez-May et al. (2013) used pineapple leaves in nutritional blocks and determined the EPGF of gastrointestinal nematodes in naturally infected sheep, observing a reduction of 90.24% of EPGF, however, in both studies the mode of action was not reported. According to the results of this research, HEPC was found to have up to 34.9% ML, which could explain the reduction described by the authors.

In an experiment carried out with BRS Boyra pineapple leaves, they prepared a methanolic extract where they found 2.38% of ML at a concentration of 5 mg/ml, while with the aqueous and organic fractions at the same concentration, they obtained 1.33%, and 1.37%, respectively, results lower than those obtained in the present study (Rodrigues et al. 2020).

In addition to the above, Domingues et al. (2013) showed results of 100, 79.4 and 54.7% at concentrations 10, 5, and 2.5 mg/ml, with greater larvicidal than ovicidal activity, results that do not coincide with the data obtained in the present work, since greater activity was observed. ovicide than larvicide. The above could indicate that the differences found could be due to L₁ larvae being more sensitive to bioactive compounds than nematode eggs, or to the exposure time of the larvae to the different extracts (Cala et al. 2012; Chagas et al. 2018).

Finally, it has been shown that the secondary metabolites responsible for the anthelmintic activity in *Ananas comosus* extracts are p-coumaric acid, tannins, saponins, and the cysteine protease bromelain, these compounds are capable of intervening in the development of the life cycle of gastrointestinal nematodes, including *Haemonchus contortus* (Hossain and Rahman 2011; Hernández et al. 2017; Rodrigues et al. 2020; Daiba et al. 2022). However, this research differs from the authors because the efficacy obtained with the hydroalcoholic extract of pineapple crown variety MD-2 is associated with the presence of chlorogenic acid and an analog derived from it.

Conclusions

The hydroalcoholic extract of pineapple crown variety MD-2, its fractions, and subfractions showed activity on the inhibition of egg hatching and lethal mortality on *Haemonchus contortus* resistant to benzimidazoles, SF5 was identified as the most active in the inhibition of hatching and this the presence of chlorogenic acid and an analog of this was identified and it was determined that hydroalcoholic extract of pineapple crown so HEPC could be a sustainable control option for the control of this gastrointestinal nematode in sheep production units. However, it is still necessary to carry out in vivo tests with other species of nematodes to see their response and confirm said activity.

Disclosure Statement

The authors report that there is no potential conflict of interest.

References

- Adduci I, Sajovitz F, Hinney B, Lichtmannsperger K, Joachim A, Wittek T, Yan S. 2022. Haemonchosis in sheep and goats, control strategies and development of vaccines against *Haemonchus contortus*. *Animals*. 12: 2339.
- Agnes JX, Anusuya A. 2021. Phytochemical screening and in vitro antioxidant activity of *Ananas comosus*. *International Journal of Research in Pharmacology & Pharmacotherapeutics*. 5: 162-169.
- Ali R, Ahmad N, Mussarat S, Majid A, Alnomasy SF, Khan SN. 2021. Nanoparticles as Alternatives for the Control of *Haemonchus contortus*: A Systematic Approach to Unveil New Anti-haemonchiasis Agents. *Frontiers in Veterinary Science*. 8:789977.

Arsenopoulos KV, Fthenakis GC, Katsarou EI, Papadopoulos E. 2021. Haemonchosis: A challenging parasitic infection of sheep and goats. *Animals*. 11: 363.

Barros LC, Hernández BA. 2022. Análisis de aplicaciones de los coproductos derivados del aprovechamiento de los residuos del cultivo de piña en Santander. [Tesis de Licenciatura]. Bucaramanga (COL): Unidades Tecnológicas de Santander.

Bobadilla-Soto EE, Flores-Padilla JP, Perea-Peña M. 2017. Comercio exterior del sector ovino mexicano antes y después del Tratado de Libre Comercio con América del Norte. *Economía y Sociedad*, 21: 35-49.

Cáceres-Mejía JA, Aguilar-Caballero AJ, Cámara-Sarmiento R, Torres-Acosta JF (octubre, 2013). Efecto de la suplementación con hojas de piña (*Annanas comosus*) sobre la carga de huevos de nematodos gastrointestinales en ovinos de pelo en pastoreo [Sesión de congreso]. XVII congreso internacional de ovinocultura, Acapulco, Guerrero, México. https://www.researchgate.net/profile/Armando-Aguilar-Caballero/publication/284166357_Efecto_de_la_suplementacion_con_hojas_de_pina_annanas_comosus_sobre_la_carga_de_huevos_de_nematodos_gastrointestinales_en_ovinos_de_pelo_en_pastoreo/links/564d4b1708ae4988a7a4383c/Efecto-de-la-suplementacion-con-hojas-de-pina-annanas-comosus-sobre-la-carga-de-huevos-de-nematodos-gastrointestinales-en-ovinos-de-pelo-en-pastoreo.pdf

Cala AC, Chagas ACS, Oliveira MCS, Matos AP, Borges LM F, Sousa LAD, Souza FA, Oliveira GP. 2012. In vitro anthelmintic effect of *Melia azedarach* L. and *Trichilia clausenii* C. against sheep gastrointestinal nematodes. *Experimental Parasitology*. 130: 98-102.

Can-Celis A, Torres-Acosta JFJ, Mancilla-Montelongo MG, González-Pech PG, Ramos-Bruno E, Sandoval-Castro CA, Vargas-Magaña JJ, Bojórquez-Encalada F, Cruz-Tamayo A, Canché-Pool E, López-Arellano ME, Galaz-Ávalos RM, Loyola-Vargas V, Méndez-Ortíz FA. 2022. Effect of three feeding levels on the pathogenesis and establishment of *Haemonchus contortus* in parasite-naïve Pelibuey hair sheep lambs during their first infection. *Veterinary Parasitology*, 311: 109811.

Chagas ACS, Figueiredo A, Politi FA, Moro IJ, Esteves SN, Bizzo HR, Gama PE, Chaves FC. 2018. Efficacy of essential oils from plants cultivated in the Amazonian Biome against gastrointestinal nematodes in sheep. *Journal of Parasitic Diseases*, 42: 357-364.

Chaparro ME, Mayta HD, Llamoca DE, Choquechua MD, Otero NK. 2021. Extracción de celulosa a partir de cáscara de tuna y corona de piña. *Revista Ciencia y Tecnología-Para el Desarrollo-UJCM*, 6: 25-31.

Charlier J, Rinaldi L, Musella V, Ploeger HW, Chartier C, Vineer HR, Hinney B, von Samson-Himmelstjerna G, Bacescu B, Mickiewicz M, Mateus TL, Martinez VM, Quealy S, Azaizeh H, Sekovska B, Akkari H, Petkevicius S, Hektoen L, Hoglund J, Morgan ER, Bartley DJ, Claerebout E. 2020. Initial assessment of the economic burden of major parasitic helminth infections on the ruminant livestock industry in Europe. *Preventive Veterinary Medicine*. 182: 105103.

Cortes-Morales JA, Olmedo-Juárez A, Trejo-Tapia G, González-Cortazar M, Domínguez-Mendoza BE, Mendoza-de Gives P, Zamilpa A. 2019. In vitro ovicidal activity of *Baccharis conferta* Kunth against *Haemonchus contortus*. *Experimental Parasitology*. 197, 20-28.

Daiba AR, Kagira JM, Kimotho J, Maina N. 2022. Eficacia antihelmíntica in vitro de bromelina nanoencapsulada contra nematodos gastrointestinales de cabras en Kenia. *Revista veterinaria del mundo*, 12 (1), 95-104.

de Paula-Carlis MS, Féboli A, de Laurentiz AC, da Silva-Filardi R, de Oliveira-Prizantelli AH, Andrade ML, Alves L, Guidi-Magalhães L, da Silva R. 2019. In vitro anthelmintic activity of the crude hydroalcoholic extract of *Piper cubeba* fruits and isolated natural products against gastrointestinal nematodes in sheep. *Veterinary parasitology*, 275: 108932.

Debnath B, Singh WS, Manna K. 2023. A phytopharmacological review on *Ananas comosus*. *Advances in Traditional Medicine*, 23:291-298.

Domingues LF, Giglioti R, Feitosa KA, Fantatto RR, Rabelo MD, de Sena-Oliveira MC, Bechara GH, de Oliveira PG, Barioni-Junior W, de Souza-Chagas AC. 2013. In vitro and in vivo evaluation of the activity of pineapple (*Ananas comosus*) on *Haemonchus contortus* in Santa Inês sheep. *Veterinary Parasitology*, 197:263–270.

Doyle SR, Laing R, Bartley DJ, Britton C, Chaudhry U, Gilleard J S, Holroyd N, Mable BK, Maitland K, Morrison AA, Tait A, Tracey A, Berriman M, Devaney E, Cotton JA, Sargison ND. 2018. A genome resequencing-based genetic map reveals the recombination landscape of an outbred parasitic nematode in the presence of polyploidy and polyandry. *Genome Biology and Evolution*, 10: 396-409.

Fetene A, Amante M. 2019. Alternative to Synthetic Anthelmintic to Prevent and Control Gastrointestinal Parasite in Sheep and Goat. *American-Eurasian Journal of Scientific Research*. 14: 06-14.

Flay K J, Hill FI, Muguero DH. 2022. A Review: *Haemonchus contortus* infection in pasture-based sheep production systems, with a focus on the pathogenesis of anemia and changes in hematological parameters. *Animals*. 12: 1238.

Hansen J, Perry B. 1994. The Epidemiology. In Diagnosis and Control of Helminth Parasites of Ruminants, 2nd ed.; International Laboratory for Research on Animal Diseases: Nairobi, Kenya. ISBN 92-9055-703-1.

Hernández-Villegas MM, Barrientos-Ramírez L, Bolio-López GI, Hernández-Bolio GI, Rivera-Torrez DL, Hipólito-Velasco JC. 2017. In vitro effect of the aqueous extract of pineapple leaves (*Ananas comosus*) on gastrointestinal nematodes of sheep. *Actas Iberoamericanas de Conservación Animal*. 10: 135-141.

Hossain MA, Rahman SM. 2011. Total phenolics, flavonoids, and antioxidant activity of tropical fruit pineapple. *Food Research International*. 44:672-676.

Ibarra EO, Ramírez GH, Ibarra IHO. 2021. Composición nutricional y compuestos fitoquímicos de la piña (*Ananas comosus*) y su potencial emergente para el desarrollo de alimentos funcionales. *Boletín de Ciencias Agropecuarias del ICAP*, 7: 24-28.

Jasso DG. 2017. Evaluación *in vitro* de extractos orgánicos de cuatro plantas contra huevos, larvas infectantes e histiotróficas de *Haemonchus contortus* (Tesis de Doctorado). Montecillo, Texcoco (Edo. Mex.) Colegio de Postgraduados.

Küpeli AE, Kozan E, Bardakci H, Hakan BT, Khalilpour S. 2021. Potential anthelmintic and antioxidant activities of *Jasminum fruticans L.* and its phytochemical analysis. *Pharmaceutical Sciences*.

López-Rodríguez G, Rivero-Perez N, Olmedo-Juárez A, Valladares-Carranza B, Rosenfeld-Miranda C, Hori-Oshima S, Zaragoza-Bastida A. 2022. Efecto del extracto hidroalcohólico de hojas de *Leucaena leucocephala* sobre la eclosión de *Haemonchus contortus* in vitro. *Abanico veterinario*, 12: 1-12.

Lorente GY. 2022. Fertilización foliar en plantas de piña 'MD-2'. *Sinergia Académica*, 2:41-49.

Mendoza-de Gives P, Braga FR, Araújo JVD. 2022. Nematophagous fungi are an extraordinary tool for controlling ruminant parasitic nematodes and other biotechnological applications. *Biocontrol Science and Technology*, 32: 777-793.

Munguía XJ, Navarro GR, Hernández CJ, Molina BR, Cedillo CJ, Granados RJ. 2018. Parásitos gastroentéricos, población *haemonchus contortus* en caprinos en clima semiárido de Bacum, Sonora, México. *Abanico veterinario*, 8:42-50.

Olmedo-Juárez A, Rojo-Rubio R, Zamilpa A, Mendoza de Gives P, Arece-García J, López-Arellano M E, von Son- de Fernex E. 2017. In vitro larvicidal effect of a hydroalcoholic extract from *Acacia cochliacantha* leaf against ruminant parasitic nematodes. *Veterinary Research Communications*, 41: 227-232.

Ramírez-May JI, Ayala-Burgos AJ, Aguilar-Pérez F, Torres-Acosta JFF, Aguilar-Caballero AJ. 2013. Control de nematodos gastrointestinales con bloques Nutricionales con hojas de piña (*Ananas comosus*) en ovinos bajo Pastoreo. XL Reunión de la Asociación Mexicana para la Producción Animal y Seguridad Alimentaria, A.C. (AMPA) y IX Seminario Internacional de Ovinos en el Trópico. Villahermosa, Tabasco, México del 22 al 24 de mayo. Pp. 803-806.

Reyes-Guerrero DE, Olmedo-Juárez A, Mendoza-de Gives P. 2021. Control y prevención de nematodosis en pequeños rumiantes: antecedentes, retos y perspectivas en México. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 12: 186-204.

Rivero-Perez N, Ayala-Martinez M, Zepeda-Bastida, A., Meneses-mayo, M., and Ojeda-Ramirez, D. (2016). Anti-inflammatory effect of aqueous extracts of spent *Pleurotus ostreatus* substrates in mouse ears treated with 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate. *Indian Journal of Pharmacology*, 48:141-144.

Rivero-Perez N, Jaramillo Colmenero A, Peláez-Acero A, Rivas-Jacobo M, 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.

Rodrigues CI, Mota-da Costa D, Viera-Santos AC, Moreira-Batatinha MJ, Duarte-Souza FV, Hilo-de Souza E, Borges-Botura M, Queiroz-Alves C, Soares TL, Neves-Brandaõ H. 2020. Assessment of in vitro anthelmintic activity and bio-guided chemical analysis of BRS Boyrá pineapple leaf extracts. *Veterinary Parasitology*, 285:109219.

Schweizer NM, Foster DM, Knox WB, Sylvester HJ, Anderson KL. 2016. Single vs. double dose of copper oxide wire particles (COWP) for treatment of anthelmintic-resistant *Haemonchus contortus* in weanling lambs. *Veterinary parasitology*, 229: 68–72.

Sepúlveda-Vázquez J, Torres-Acosta JF, Sandoval-Castro CA, Martínez-Puc JF, Chan-Pérez JI. 2018. La importancia de los metabolitos secundarios en el control de nematodos gastrointestinales en ovinos con énfasis en Yucatán, México. *Journal of the Selva Andina Animal Science*, 5:79-95.

SIAP: servicio de información agroalimentaria y pesquera. 2021. Cierre de la producción agrícola. [consultado el 22 de septiembre de 2022] <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>

Silva-Soares SC, de Lima GC, Carlos-Laurentiz A, Féboli A, Dos-Anjos LA, de Paula-Carlis MS, da Silva-Filardi R, da Silva- de Laurentiz R. 2018. In vitro anthelmintic

activity of grape pomace extract against gastrointestinal nematodes of naturally infected sheep. *International Journal of veterinary science and medicine*, 6:243-247.

Sujon MA, Mostofa M, Jahan MS, Das AR, Rob S. 2008. Studies on medicinal plants against gastrointestinal nematodes of goats. *Bangladesh Journal of Veterinary Medicine*, 6:179-183.

Syahmi ARM, Vijayaratna S, Sasidharan S, Latha LY, Kwan YP, Lau YL, Shin NL, Chen Y. 2010. Acute oral toxicity and brine shrimp lethality of *Elaeis guineensis* Jacq., (oil palm leaf) methanol extract. *Molecules*, 15:8111-8121.

Von Son-de Fernex E, Alonso-Díaz MÁ, Mendoza-de Gives P, Valles-de la Mora B, González-Cortazar M, Zamilpa A, Gallegos EC. 2015. Elucidation of *Leucaena leucocephala* anthelmintic-like phytochemicals and the ultrastructural damage generated to eggs of *Cooperia* spp. *Veterinary Parasitology*, 214: 89-95.

Zaragoza-Bastida A, Rodríguez-Salazar E, Valladares-Carranza B, Rivas-Jacobo M, Herrera-Corredor A, Rivero-Pérez N. 2019. *Cassia fistula* como tratamiento alternativo contra nematodos gastrointestinales de ovino. *Abanico veterinario*, 9:1-10.

ANEXO

1.-Estancia académica Instituto de Ciencias Agropecuarias, U.A.E.H.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
Instituto de Ciencias Agropecuarias
School of Forestry and Environmental Studies
Área Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia

AdZB-25-2020

Asunto: Aceptación de estancia de investigación

Dra. María de la Luz Guerrero González
Coordinadora de la Maestría en Ciencias Agropecuarias
Universidad Autónoma de San Luis Potosí

Anticipándole un cordial saludo, al mismo tiempo me es grato comunicarle que la **I.A. Maritza Arcelia Rivas Zarco**, ha sido aceptada para realizar una estancia de investigación, dicha estancia se realizara en el Laboratorio de Bacteriología de investigación del Área Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia del Instituto de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Estado de Hidalgo, bajo la supervisión de quien suscribe y en el periodo comprometido del 04 de julio al 31 de agosto presente año.

A petición del interesado y para los usos y fines legales que al mismo convengan, se extiende la presente carta.

Sin otro particular, aprovecho la oportunidad para enviarle un cordial saludo y quedo a sus órdenes para cualquier aclaración.

"AMOR, ORDEN Y PROGRESO"
Tulancingo de Bravo a 30 de junio de 2022



Dr. Adrian Zaragoza Bastida
PTC-AAMVZ-ICAP-UAEH

c.c.p. archivo

Dr. Gilberto Ballesteros Rodea, director de tesis

Avenida Universidad Km. 1 s/n, Exhacienda Acuetzalpa
Tulancingo de Bravo, Hidalgo, México; C.P. 43600



www.uaeh.edu.mx



Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo
Instituto de Ciencias Agropecuarias
Área Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Otorga la presente

CONSTANCIA

a

Rivas Zarco M, Zaragoza Bastida A, Herrera Corredor C, Ballesteros Rodea G, Rivas Jacobo M, Ojeda Ramírez D, López Rodríguez G, de Jesús Martínez X, Herrera Carrizalez A, Rivero Pérez N

Por su participación como ponente con el tema "Actividad larvica del extracto hidroalcohólico de *Ananas comosus* sobre nematodos gastrointestinales de ovinos", en el marco del "2do Congreso Internacional de Ciencias Veterinarias y Producción Animal", llevado acabo los días 3 y 4 de noviembre.



"Amor, Orden y Progreso"

Tulancingo de Bravo, Hidalgo, a 3 de noviembre de 2022

Dr. Armando Peláez Acero
Director de ICAP-UAEH

Dr. Vicente Vega Sánchez
Jefe del AAMVZ-ICAP-UAEH

Dr. Adrian Zaragoza Bastida
Presidente del Congreso

3.- Participación congresos, reuniones nacionales de investigación e innovación, pecuaria, agrícola, forestal y acuícola pesquera.



OTORGA LA PRESENTE

CONSTANCIA

A

RIVAS ZARCO MARITZA ARCELIA, ADRIÁN ZARAGOZA BASTIDA, NALLELY RIVERO PÉREZ, CAMELIA ALEJANDRA HERRERA CORREDOR, GILBERTO BALLESTEROS RODEA, ANA LIZET MORALES UBALDO, GABINO MISAEL LÓPEZ

Por su participación con el trabajo denominado:

ACTIVIDAD OVICIDA DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE ANANAS COMOSUS SOBRE NEMATODOS GASTROINTESTINALES DE OVINOS



DR. LUIS ÁNGEL RODRÍGUEZ DEL BOSQUE
Vicepresidente del Comité Organizador Nacional

VILLAHERMOSA TABASCO, 09 AL 12 DE NOVIEMBRE DE 2022

Ciencia para vivir

