

Cuernavaca, Mor., 15 de junio de 2020.

DR. RUBÉN CASTRO FRANCO
COORDINADOR DE LA MAESTRIA EN MANEJO DE RECURSOS NATURALES
DEL CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS

Por este medio informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis intitulado: “**EFFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DEL HONGO COMESTIBLE *NEOLENTINUS PONDEROSUS* SOBRE EL NEMOTODO *HAEMONCHUS CONTORTUS*”**, que presenta la alumna **M.V.Z. LILIA FRANCISCA MONTAÑEZ PALMA**, mismo que constituye un requisito parcial para obtener el grado de MAESTRO EN MANEJO DE RECURSOS NATURALES, lo encuentro satisfactorio por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que la alumna continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento, quedo de usted.

Atentamente
Por una humanidad culta
Una universidad de excelencia



Dra. Maura Téllez Téllez
Catedrática de posgrado del
Centro de Investigaciones Biológicas

Cuernavaca, Mor., 15 de junio de 2020.

DR. RUBÉN CASTRO FRANCO
COORDINADOR DE LA MAESTRIA EN MANEJO DE RECURSOS NATURALES
DEL CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS

Por este medio informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis intitulado: “**EFFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DEL HONGO COMESTIBLE *NEOLENTINUS PONDEROSUS* SOBRE EL NEMATODO *HAEMONCHUS CONTORTUS*”**, que presenta la alumna **M.V.Z. LILIA FRANCISCA MONTAÑEZ PALMA**, mismo que constituye un requisito parcial para obtener el grado de MAESTRO EN MANEJO DE RECURSOS NATURALES, lo encuentro satisfactorio por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que la alumna continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento, quedo de usted.

Atentamente
Por una humanidad culta
Una universidad de excelencia



Dra. Liliana Aguilar Marcelino
CENID SALUD ANIMAL E INOCUIDAD, INIFAP



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS

POSGRADO

Maestría en Manejo de Recursos Naturales



CENTRO DE
INVESTIGACIONES
BIOLÓGICAS
UAEM

Cuernavaca, Mor., 15 de junio de 2020.

DR. RUBÉN CASTRO FRANCO
COORDINADOR DE LA MAESTRIA EN MANEJO DE RECURSOS NATURALES
DEL CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS

Por este medio informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis intitulado: **EFFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DEL HONGO COMESTIBLE *NEOLENTINUS PONDEROSUS* SOBRE EL NEMOTODO *HAEMONCHUS CONTORTUS*** “, que presenta la alumna **M.V.Z. LILIA FRANCISCA MONTAÑEZ PALMA**, mismo que constituye un requisito parcial para obtener el grado de MAESTRO EN MANEJO DE RECURSOS NATURALES, lo encuentro satisfactorio por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que la alumna continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento, quedo de usted.

Atentamente
Por una humanidad culta
Una universidad de excelencia

M en C. Ma. De Lourdes Acosta Urdapilleta
Catedrática de posgrado del
Centro de Investigaciones Biológicas

Av. Universidad 1001 Col. Chamilpa, Cuernavaca Morelos, México, 62209,
Tel. (777) 329 70 29, Ext. 3511 / coord.posgradocib@uaem.mx

**UA
EM**

Una universidad de excelencia

RECTORÍA
2017-2023

Cuernavaca, Mor., 15 de junio de 2020.

DR. RUBÉN CASTRO FRANCO
COORDINADOR DE LA MAESTRIA EN MANEJO DE RECURSOS NATURALES
DEL CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS

Por este medio informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis intitulado: **EFFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DEL HONGO COMESTIBLE *NEOLENTINUS PONDEROSUS* SOBRE EL NEMOTODO *HAEMONCHUS CONTORTUS*** “, que presenta la alumna **M.V.Z. LILIA FRANCISCA MONTAÑEZ PALMA**, mismo que constituye un requisito parcial para obtener el grado de MAESTRO EN MANEJO DE RECURSOS NATURALES, lo encuentro satisfactorio por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que la alumna continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento, quedo de usted.

Atentamente
Por una humanidad culta
Una universidad de excelencia



Dr. Gerardo Díaz Godínez
Catedrático de posgrado del
Centro de Investigaciones Biológicas

Cuernavaca, Mor., 15 de junio de 2020.

DR. RUBÉN CASTRO FRANCO
COORDINADOR DE LA MAESTRIA EN MANEJO DE RECURSOS NATURALES
DEL CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS

Por este medio informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis intitulado: **EFFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DEL HONGO COMESTIBLE *NEOLENTINUS PONDEROSUS* SOBRE EL NEMOTODO *HAEMONCHUS CONTORTUS*** “, que presenta la alumna **M.V.Z. LILIA FRANCISCA MONTAÑEZ PALMA**, mismo que constituye un requisito parcial para obtener el grado de MAESTRO EN MANEJO DE RECURSOS NATURALES, lo encuentro satisfactorio por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento, quedo de usted.

Atentamente
Por una humanidad culta
Una universidad de excelencia



Dr. Edgar Martínez Fernández
Catedrático de posgrado del
Centro de Investigaciones Biológicas

Cuernavaca, Mor., 15 de junio de 2020.

DR. RUBÉN CASTRO FRANCO
COORDINADOR DE LA MAESTRIA EN MANEJO DE RECURSOS NATURALES
DEL CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS

Por este medio informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis intitulado: **EFFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DEL HONGO COMESTIBLE *NEOLENTINUS PONDEROSUS* SOBRE EL NEMOTODO *HAEMONCHUS CONTORTUS*** “, que presenta la alumna **M.V.Z. LILIA FRANCISCA MONTAÑEZ PALMA**, mismo que constituye un requisito parcial para obtener el grado de MAESTRO EN MANEJO DE RECURSOS NATURALES, lo encuentro satisfactorio por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que la alumna continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento, quedo de usted.

Atentamente
Por una humanidad culta
UNA UNIVERSIDAD DE EXCELENCIA

Dr. Guadalupe Peña Chora
Catedrático de posgrado del
Centro de Investigaciones Biológicas



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

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

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

Sello electrónico

GUADALUPE PEÑA CHORA | Fecha:2020-07-22 20:03:07 | Firmante

jqo/CcyokUPYH12G1UorHWlhShX8AumLgkYPJDe2dj2DgODDVR7BvjU9IG+v18u+qvYmZYExwPFBs+pqUUyDF1LrxYITH2NgtBK2CBNkx0j5/E0cKvhpma3wCGeEIJz1UL/beruWKwQJCCfJtEF14hOLH9K3HQD+FB8CfWHGgOfQuKaTYZlySER1UdmIBeyfdz0LeuCHWYmPvzl41VPsP9VgW+8slM5AiSNT3qppdus16an/baRrA06FwmeQ5B/ZCtOKjhwBAYq8UG67qUr8+UO3OYXteB0peitp.JeqMLmrMHOueBIs/mlmZhwHqSNjwpOxVq8yCAcHioliXmal9w==



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

I6hj5Y

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/IB3jJPX3rMSSnZ7np1npNeGsZeyXBL7B>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS
CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS

MAESTRÍA EN MANEJO DE RECURSOS
NATURALES ORIENTACIÓN
PROFESIONALIZANTE

“EFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO
DEL HONGO COMESTIBLE *NEOLENTINUS*
PONDEROSUS SOBRE EL NEMATODO
HAEMONCHUS
CONTORTUS”

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN MANEJO
DE
RECURSOS NATURALES

P RESENTA

M.V.Z. LILIA FRANCISCA MONTAÑEZ PALMA

DIRECTOR

DRA. MAURA TÉLLEZ TÉLLEZ

CODIRECTOR

DRA. LILIANA AGUILAR MARCELINO



CENTRO DE
INVESTIGACIONES
BIOLÓGICAS
UAEM

C UERNAVACA, MORELOS

AGOSTO, 2020



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE
MORELOS CENTRO DE INVESTIGACIONES
BIOLÓGICAS

MAESTRÍA EN MANEJO DE RECURSOS
NATURALES ORIENTACIÓN
PROFESIONALIZANTE

“EFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO
DEL HONGO COMESTIBLE *NEOLENTINUS*
PONDEROSUS SOBRE EL NEMATODO
HAEMONCHUS
CONTORTUS”

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN MANEJO
DE
RECURSOS NATURALES

P R E S E N T A

LILIA FRANCISCA MONTAÑEZ PALMA

DIRECTOR

DRA. MAURA TÉLLEZ TÉLLEZ

CODIRECTOR

DRA. LILIANA AGUILAR MARCELINO



CUERNAVACA, MORELOS

AGOSTO, 2020

DEDICATORIA

A Dios por cada día de vida.

A mis amados hijos Daniela y Diego quien son mi mayor motivación y mi luz para poder lograr muchas cosas en esta vida; con todo mi amor quiero dedicarles esto también para que vean en mí un pequeño ejemplo de que sí se quiere se puede, que no hay edad para poder cumplir los sueños que más anhelamos y sobre todo que yo sé que son personas realmente especiales que podrán lograr cosas maravillosas y que serán capaz de dejar una huella positiva en este mundo.

A mi compañero de vida Josué por la paciencia, confianza y el apoyo que siempre me ha brindado, por que siempre ha estado ahí para mí. Te amo.

A mis padres y familiares que siempre han estado presente en mi vida y que siempre me han apoyado en todo.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada (No. 885238) para la realización de los estudios de maestría y financiamiento de éste proyecto.

Al Centro de Investigaciones Biológicas (CIB) de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, por permitirme realizar los estudios en la Maestría en Manejo de Recursos Naturales, así como al personal administrativo por su apoyo.

Al CENID SALUD ANIMAL del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) quienes me recibieron muy cálidamente y con quienes he desarrollado mis habilidades en la investigación, también a todos mis compañeros de laboratorio por su amistad brindada.

A mí directora de tesis la Dra. Maura Téllez Téllez, por su apoyo, por compartirme su conocimiento, por guiarme e instruirme en este proyecto, por que sin sus valiosos comentarios no lo hubiera podido lograr.

A mí codirectora de tesis la Dra. Liliana Aguilar Marcelino, por su paciencia, sus consejos, su amistad; por compartirme sus conocimientos sin límite alguno y sobre todo su confianza hacía mi persona, muchas gracias.

A la Dra. Ma. de Lourdes Acosta Urdapilleta, por compartirme todo su conocimiento en este maravilloso mundo de los hongos, por enseñarme lo fascinante que pueden ser, por sus recetas, por guiarme, por su infinita paciencia y amabilidad hacía mí.

Dr. Gerardo Díaz Godínez por su conocimiento, sus aportes y sus valiosos comentarios, durante la realización de este trabajo.

Al comité revisor: Dr. Guadalupe Peña Chora y el Dr. Edgar Martínez Fernández por sus valiosos comentarios, aportaciones y observaciones para mejorar el presente estudio.

ÍNDICE

1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN	2
3. ANTECEDENTES	5
3.1 LAS PARASITOSIS GASTROINTESTINALES DEL GANADO	5
3.1.1 CONTROL QUÍMICO	7
3.2 ALTERNATIVAS DE CONTROL	7
3.2.1 VACUNAS	7
3.2.2 PARTÍCULAS DE COBRE	8
3.2.3 PASTOREO ROTACIONAL	8
3.2.4 CONTROL BIOLÓGICO	9
3.2.5 PLANTAS MEDICINALES	10
3.4 HONGOS COMESTIBLES	11
3.4.1 CICLO BIOLÓGICO DE LOS HONGOS MACROMICETOS	12
3.5 GÉNERO <i>PLEUROTUS</i> SPP.	12
3.5.1 EL HONGO <i>PLEUROTUS</i> SPP. COMO AGENTE POTENCIAL DE CONTROL DE NEMATODOS PARÁSITOS	15
3.6 <i>NEOLENTINUS PONDEROSUS</i>	17
3.6.1 PROPIEDADES MEDICINALES DE <i>NEOLENTINUS PONDEROSUS</i>	19
3.7 USO Y CUIDADO DE ANIMALES DESTINADOS A LA INVESTIGACIÓN	19
3.8 JERBOS (<i>MERIONES UNGUICULATUS</i>)	21
3.9 <i>HAEMONCHUS CONTORTUS</i>	25
3.9.1. BIOLOGÍA	22
3.9.2. TAXONOMÍA	23
3.9.3. FISIOLÓGÍA	24
3.9.4. CICLO BIOLÓGICO DEL NEMATODO PARÁSITO DE OVINOS <i>HAEMONCHUS CONTORTUS</i>	25
4. JUSTIFICACIÓN	27
5. OBJETIVOS	27

5.1 OBJETIVO GENERAL	27
5.1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	27
6. HIPÓTESIS	28
7. MATERIAL Y MÉTODOS	28
7.1 LOCALIZACIÓN	30
7.2 CEPA DE <i>N. PONDEROSUS</i>	30
7.2.1. CONDICIONES DE CULTIVO Y BIOMASA DE <i>NEOLENTINUS PONDEROSUS</i>	31
7.3 NEMATODOS	31
7.3.1 PRODUCCIÓN DE <i>HAEMONCHUS CONTORTUS</i> (L ₃)	31
7.3.2 LIMPIEZA DE LARVAS DE <i>HAEMONCHUS CONTORTUS</i>	32
7.3.3 ELIMINACIÓN DE LA VAINA DE LARVAS (L ₃) DE <i>HAEMONCHUS CONTORTUS</i>	34
7.4 ANIMALES EXPERIMENTALES JERBOS (<i>MERIONES</i> 34 <i>UNGUICULATUS</i>)	
7.5 OBTENCIÓN DEL EXTRACTO ORGÁNICO DEL HONGO COMESTIBLE <i>NEOLENTINUS PONDEROSUS</i>	35
7.5.1 EVALUACIÓN <i>IN VITRO</i> DEL EXTRACTO DEL HONGO <i>NEOLENTINUS PONDEROSUS</i> CONTRA LARVAS INFECTANTES (L ₃) DEL NEMATODO PARÁSITO DE OVINOS <i>HAEMONCHUS CONTORTUS</i> DE SIETE, 14 Y 21 DÍAS	37
7.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	39
7.7 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DEL HONGO <i>N. PONDEROSUS</i> EN JERBOS INFECTADOS CON EL NEMATODO <i>H. CONTORTUS</i> .	40
7.7.1 DESPARASITACIÓN	40
7.7.2 INMUNOSUPRESIÓN DE JERBOS (<i>MERIONES</i> 41 <i>UNGUICULATUS</i>) E INFECCIÓN ARTIFICIAL CON LARVAS SIN VAINA DE <i>HAEMONCHUS CONTORTUS</i>	
7.7.3 DISEÑO EXPERIMENTAL	42

7.7.4 SACRIFICIO DE JERBOS, BÚSQUEDA Y CUANTIFICACIÓN DE ESTADÍOS ENDOPARÁSITOS DE <i>HAEMONCHUS CONTORTUS</i> EN ESTÓMAGO Y MUCOSA	43
7.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	45
8. RESULTADOS	45
8.1 EVALUACIÓN <i>IN VITRO</i> DEL EHNP CONTRA LARVAS (L ₃) <i>HAEMONCHUS CONTORTUS</i> A SIETE, 14, 21 DÍAS DE INCUBACIÓN	45
8.2 EVALUACIÓN <i>IN VIVO</i> DEL EHNP CONTRA LARVAS (L ₃) <i>HAEMONCHUS CONTORTUS</i> EN JERBOS	50
9. DISCUSIÓN	55
10. CONCLUSIONES	59
11. PERSPECTIVAS	59
12. LITERATURA CITADA	60
12.1 DICTIOTOPOGRAFÍA	81
13. ABREVIATURAS	83
14. ANEXOS	85
14.1 ELABORACIÓN DE COPROCULTIVO	85
14.2 TÉCNICA DE BAERMANN	87
14.3 MÉTODO MC MASTER	89
<hr/>	
ÍNDICE DE FIGURAS	91
ÍNDICE DE TABLAS	95
<hr/>	

1. RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto *in vitro* e *in vivo* del extracto hidroalcohólico de *Neolentinus ponderosus* (EHNP) sobre el nematodo *Haemonchus contortus*. La cepa de *N. ponderosus* fue proporcionada por el cepario del Laboratorio de Micología del CIB, UAEM. El hongo *N. ponderosus* se creció en medio líquido de papa dextrosa (PD) durante siete, 14 y 21 días a 120 rpm y 25 °C. Posteriormente, se obtuvo el extracto hidroalcohólico del hongo, se realizaron bioensayos *in vitro* en placas de 96 pozos se conformaron por nueve series, la primera serie (grupo testigo negativo: agua destilada), la segunda serie (grupo testigo positivo: antihelmíntico comercial: ivermectina 5 mg/mL), de la serie tres a la nueve (grupos tratados) a diferentes concentraciones del EHNP. Los resultados de la evaluación de la actividad *in vitro* del EHNP de siete días contra larvas infectantes (L₃) de *H. contortus* mostraron la mayor mortalidad (97%) a una concentración de 3.4 mg/mL, una CL₅₀ de 0.55 mg/mL y CL₉₀ de 2 mg/mL a las 72 h. Posteriormente, se evaluó la actividad *in vivo* de EHNP usando como modelo experimental el jerbo (*Meriones unguiculatus*) contra larvas (L₃) de *H. contortus*. El diseño experimental consistió en cuatro grupos con seis animales cada uno (12 machos y 12 hembras); 1) agua destilada, 2) fenbendazol a 20 mg/kg pv, 3) EHNP una dosis de 81 µg/mL y 4) EHNP a una dosis de 40 µg/mL. En la evaluación *in vivo* la mayor mortalidad fue de 49% a las 72 horas a una concentración de 81 µg/mL p.v. Aunque el EHNP demostró tener actividad nematicida, se deben realizar experimentos adicionales, usando diferentes niveles de dosis y días de aplicación, probar su efectividad en ovinos e identificar los metabolitos bioactivos.

2. INTRODUCCIÓN

En México existen cuatro sistemas de producción de ovinos que son clasificados de la siguiente manera: 1) La empresarial, generalmente con rebaños estabulados, son los sistemas en que se cuida la eficiencia productiva del rebaño, existe inversión, uso de tecnología avanzada y asesoría técnica profesional. Su único objetivo es la rentabilidad. 2) La llamada ganadería social o tradicional, donde se tienen ovejas de traspatio, sin ningún manejo y el objetivo es como un mecanismo de ahorro, en el cual invierten poco tiempo en el cuidado de las ovinos y a cambio no les exigen más producción que la que naturalmente sobreviva. 3) La combinación de sistemas, en el que destaca el pastoreo con la estabulación parcial. Aunque la gran mayoría de los sistemas pecuarios de ovinos tienen problemas en los aspectos de reproducción, nutrición, sanitarios, comercialización, administrativos y en las construcciones y equipos. 4) La de pasatiempo, generalmente lo hacen personas con alto poder adquisitivo. Compran sementales y vientres caros sin importarles el número ni la producción de ellos. Son sistemas que no necesariamente son eficientes en su producción y por supuesto: no son rentables (Arteaga, 2006; De Lucas y Arbiza, 2006; Martínez-González *et al.*, 2010). También se distinguen por regiones: el norte, que basa su producción en ovejas de lana y razas de carne que produce el ganado cruzado (Suffolk o Hampshire) las regiones sur y suroeste se describen con características tropicales en las que se destacan las razas de pelo (Pelibuey y Black Belly), aunque actualmente se han incorporado razas especializadas para la producción de carne (Dorper y Katahdin) (Hernández-Marín, 2017).

El inventario de producción anual nacional ovina en México de acuerdo con las estadísticas del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) es de 8,902,451 cabezas de ganado (SIAP, 2017) mientras que, el inventario de población en el estado de Morelos es de tan sólo 63,063 cabezas de ganado (SIAP, 2017).

La producción eficiente de ovinos requiere de buenas prácticas de gestión que incluyen la alimentación adecuada y el cuidado de la salud, además de la selección y desarrollo de razas de animales bien adaptados a los entornos específicos de producción (FAO, 2017). La producción ovina ha tenido un auge importante en los últimos años; de acuerdo con la SIAP y la información de las diferentes delegaciones de la SAGARPA en México se registró una producción anual de 8,792,663 cabezas de ganado en el año 2016, la producción mensual fue de 538 toneladas de carne ovina para el estado de Morelos. Sin embargo, y a pesar de que la ovinocultura nacional ha ganado terreno en la producción y se ha consolidado como una actividad económicamente importante (FAO, 2017; SIAP, 2017), existen factores que limitan su potencial. Entre estos factores se encuentran las parasitosis causadas por nematodos gastrointestinales (NGI) que son un grupo de parásitos que ejercen un efecto perjudicial en la salud animal y son considerados como uno de los principales grupos de parásitos que causan pérdidas económicas (Rodríguez-Vivas, 2017).

Hasta ahora el principal método de control de los NGI consiste en la utilización de antihelmínticos químicos (e.j. lactonas macrocíclicas, benzimidazoles e imidazotiazoles), pero el uso indiscriminado a nivel mundial y nacional ha dado lugar al problema de la resistencia antihelmíntica (Zapata-Garza, 2017).

Los NGI causan una disminución en el potencial zootécnico afectando la salud de los ovinos, principalmente en las zonas tropicales, subtropicales y templadas en donde la temperatura y la humedad favorecen la continua proliferación de los NGI (Partida de la Peña *et al.*, 2013). El nematodo *Haemonchus contortus* presenta la mayor prevalencia a nivel mundial y nacional (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2017). Debido al creciente aumento de la resistencia antihelmíntica es necesario y urgente buscar nuevas estrategias/métodos que brinden una alternativa sostenible y eficaz para el control de los NGI.

Los hongos han sido considerados dentro de los principales antagonistas naturales de los nematodos de plantas y animales. Los hongos comestibles son reconocidos como un alimento funcional, un valioso recurso nutracéutico y de medicina natural (Heleno *et al.*, 2013). Entre las diferentes propiedades terapéuticas destacan su uso como: anti-inflamatorios, inmunomoduladores, antihipertensivos, cardiotónicos, anti-virales, citostáticos, anti-microbianos, anti-cancerígenos, antioxidantes, insecticidas y antiparasitarios (nematicidas) (Pineda-Alegría *et al.*, 2017; Aguilar-Marcelino *et al.*, 2017a).

La importancia de los macromicetos radica en su papel dentro del ciclo del carbono, degradando materiales recalcitrantes como la lignina, por tal motivo es frecuente colectarlos asociados a árboles en descomposición. Los macromicetos poseen la capacidad de degradar una gran variedad de compuestos de estructura aromática debido a que producen enzimas lignolíticas de gran importancia biotecnológica, ya que son inespecíficas y son excretadas por el hongo ante la presencia del sustrato recalcitrante como única fuente de carbono (Leonowicz *et al.*, 1999; Lodge *et al.*, 2004). El hongo *Neolentinus ponderosus* es un hongo comestible nativo del estado de Morelos con potencial para su cultivo (Zuluaga-Jiménez *et al.*, 2017). Este hongo posee un importante valor nutricional en cuanto a vitaminas y minerales, además de otros componentes como aminoácidos y polisacáridos considerándose así una importante alternativa alimenticia (Mata-Milagro, 1999); sin embargo, hasta el momento no se ha notificado ninguna actividad biológica de *N. ponderosus* por tal motivo, en la presente investigación se estudió el efecto del extracto hidroalcohólico del hongo comestible *N. ponderosus* contra el nematodo *H. contortus* *in vitro* e *in vivo* utilizando como modelo experimental el jerbo.

3. ANTECEDENTES

3.1 Las parasitosis gastrointestinales del ganado

Las parasitosis gastrointestinales provocan enfermedades que conllevan a la disminución del potencial zootécnico repercutiendo en la rentabilidad de las explotaciones ganaderas (Mavrot *et al.*, 2015). Los NGI son un grupo de parásitos que ejercen un efecto perjudicial en la salud animal y son considerados como uno de los principales grupos de parásitos que causan pérdidas a nivel nacional y mundial (Charlier *et al.*, 2012). Los nematodos de la familia Trichostrongylidae son los principales causantes de las parasitosis en los rumiantes. Este grupo incluye al género *Haemonchus* (Zarlenga *et al.*, 2016).

El impacto económico mundial ocasionado por el nematodo *H. contortus* está calculado en más de 400 millones de dólares (MDD) al año en Australia y los costos anuales sólo por tratamientos son de 26 MDD en Kenia, de 46 MDD en Sudáfrica y de 103 MDD en la India (Sacket *et al.*, 2006). Las parasitosis gastrointestinales (PG) del ganado son enfermedades que ocasionan un impacto económico negativo a nivel mundial. En México se han notificado pérdidas de \$8,902 millones de pesos en el potencial zootécnico de los rumiantes, interfiriendo en la rentabilidad de las explotaciones ganaderas (Rodríguez-Vivas *et al.*, 2017).

Los signos clínicos que provocan los NGI son: debilidad, diarrea, edema submaxilar, anorexia, baja conversión alimenticia, bajos índices de fertilidad y en corderos jóvenes, la muerte.

El nematodo *H. contortus* se encuentra en el abomaso de los ovinos y es considerado como el NGI con mayor prevalencia a nivel mundial (González-Garduño *et al.*, 2011, Gebresilassie y Tadele, 2015) causando una enfermedad conocida como la haemonchosis ovina (Besier *et al.*, 2016). Dentro de los grupos de drogas químicas que se usan para controlar a los NGI se encuentran los bencimidazoles, imidazotiazoles, y lactonas

macrocíclicas (Chagas *et al.*, 2016; Bordes *et al.*, 2020; Hinney *et al.*, 2020; Arsenopoulos *et al.*, 2020). Estos productos han servido para disminuir “parcialmente” las parasitosis; no obstante, el uso indiscriminado y constante de estos productos químicos ha desencadenado el problema de la resistencia antihelmíntica (RA) en los NGI de rumiantes (Cintra *et al.*, 2016; Claerebout *et al.*, 2020).

La RA ha sido asociada a polimorfismos o mutaciones genéticas en una de las moléculas diana de los parásitos, dando como resultado que los mecanismos de toxicidad de los antihelmínticos no estén funcionando de forma adecuada (Encalada-Mena *et al.*, 2014; Areskog *et al.*, 2014; Dzhafarov *et al.*, 2016). El uso excesivo de antihelmínticos es considerado como un riesgo ecotoxicológico al suelo, las plantas y los mantos acuíferos; ya que algunos medicamentos pueden ser eliminados en forma activa junto con las heces poniendo en riesgo a organismos benéficos como la fauna edáfica asociada al estiércol de los pastizales (Lumaret y Errouissi, 2002; Lumaret *et al.*, 2012). Muchos de estos organismos “no blanco” desempeñan un papel vital en los procesos de dispersión y descomposición del estiércol. Los escarabajos estercoleros *e.g.* *Onthophagus landolti* y *Canthon indigaceus chevrolati* (Basto-Estrella *et al.*, 2016) corresponden a uno de los grupos taxonómicos más importantes de organismos asociados al estiércol (Martínez y Cruz, 2009; López-Collado *et al.*, 2017). Al alimentarse de excretas que los animales depositan sobre los pastizales, contribuyen a la producción de materia orgánica y la cantidad de elementos minerales disponibles.

Los escarabajos desgajan, reparten y entierran las heces, acelerando el proceso de incorporación al suelo a la vez que lo fertiliza; sin su actividad, la acumulación de las excretas sería perjudicial para los ecosistemas (Martínez y Cruz, 2009; Lumaret *et al.*, 2012). En este contexto, es evidente la búsqueda de métodos alternos y sostenibles complementarios que reduzcan la necesidad del uso de los productos de origen químico.

3.1.1 Control químico

Debido al creciente desarrollo de la resistencia antihelmíntica es necesario investigar nuevas estrategias alternativas al control químico de los NGI. Aunado a esto, en años recientes se ha puesto mucho énfasis a nivel mundial en disminuir el uso de medicamentos de origen químico en los animales para consumo humano, ya que los productos y subproductos (leche, carne, lana y vísceras) pueden contener residuos químicos contaminantes además de amenazar al ambiente ya que algunos medicamentos pueden ser eliminados en su forma activa junto con las heces poniendo en riesgo a organismos benéficos (Dobson *et al.*, 2011).

3.2 Alternativas de control

Dentro de las alternativas que están siendo investigadas para el control de NGI se encuentra: a) la producción de vacunas contra helmintos (Zhao *et al.*, 2011; Knox, 2011). El antígeno “H-11” se ha utilizado para la producción de vacunas contra *H. contortus*, e incluso ya existe de forma comercial “Barverax” (Martínez, 2010), la actividad de la proteína recombinante (rHc23) es una vacuna para inmunizar a conderos contra *H. contortus* (Alunda *et al.*, 2013); b) La utilización de partículas de cobre; c) Pastoreo rotacional (Mandaluniz *et al.*, 2015); d) El control biológico basado en el uso de enemigos naturales (Gronvold *et al.*, 1996); e) El uso de extractos de plantas (De Jesús-Gabino *et al.*, 2010; De Oliveira *et al.*, 2011; Paez-León *et al.*, 2018).

3.2.1 Vacunas

Existen dos clases: antígenos ocultos y convencionales. Las vacunas de antígenos ocultos son eficaces contra el estadio L₄ del nematodo *H. contortus*, las vacunas convencionales podrían ser igualmente eficaces para parásitos hematófagos o ectoparásitos. Los resultados obtenidos hasta el momento son alentadores ya que indican que se ha logrado

una reducción en el conteo de huevos (HPG) (Figura 1) de NGI de un 82%, posterior a la aplicación de cuatro dosis de la vacuna “Barverax” (Castells *et al.*, 2013).



Figura 1.- Huevo de *Haemonchus contortus*. Fuente: Propiedad de la autora del presente estudio.

3.2.2 Partículas de cobre

La administración oral de bolos que contienen partículas de óxido de cobre fueron desarrolladas para el control de las deficiencias de cobre en rumiantes. Estos bolos liberan partículas de cobre las cuales se trasladan en el tracto digestivo del animal para ubicarse en la mucosa de los pliegues del abomaso. A su vez, como el cobre ha demostrado tener un efecto tóxico sobre los NGI, se inició el estudio del efecto de estos bolos en la reducción del establecimiento de los parásitos en el abomaso (Castells *et al.*, 2013).

3.2.3 Pastoreo rotacional

El pastoreo rotacional intensivo consiste en pastorear un área determinada en un período de tiempo relativamente corto, antes de que los animales sean cambiados a una nueva área. Este método involucra el uso de períodos cortos de pastoreo intensivo (una alta presión animal) con períodos largos de descanso donde la pradera se recupera, es un buen método para el control de cargas parasitarias en los animales (SAGARPA, 2017). Existen

evidencias de que, en los sistemas de pastoreo rotacional (Figura 2), algunas variantes son más eficaces que otras para el control parasitario, lo cual está en estrecha relación con el tiempo de reposo que se le brinde al potrero (Mandaluniz *et al.*, 2015).

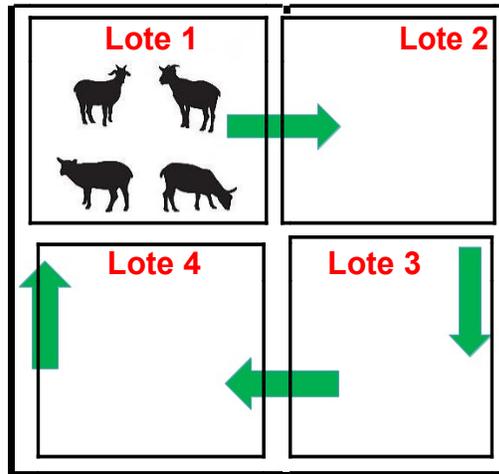


Figura 2.- Esquema general del pastoreo rotacional. Fuente: Propiedad de la autora del presente estudio.

3.2.4 Control biológico

Gronvold *et al.* (1996) definen al control biológico como un método ecológico diseñado por el hombre para disminuir las poblaciones parasitarias a un nivel subclínico aceptable, conservando estas poblaciones parasitarias a un nivel subclínico aceptable, conservando estas poblaciones en un nivel no perjudicial gracias a organismos antagonistas o enemigos vivos naturales.

Resulta fundamental entender que el control biológico como una medida reguladora cuyo objetivo no es acabar con el organismo blanco, sino controlar su población para reducir sus efectos nocivos (Larsen, 2000), a diferencia de los compuestos antihelmínticos, que fueron elaborados con el propósito de eliminar la totalidad de los parásitos (NGI) del animal (Larsen, 2000).

3.2.5 Plantas medicinales

Las plantas medicinales con alto contenido de metabolitos secundarios, tienen actividad antihelmíntica y son una opción, debido a la presencia de algunos compuestos fenólicos como los flavonoides y taninos (Torres-Acosta *et al.*, 2012; Olmedo *et al.*, 2017). Éstas poseen potencial para tratar infecciones parasitarias de animales de producción; sin embargo, la evidencia científica sobre la eficacia antiparasitaria de extractos botánicos es limitada, independientemente de su amplio uso tradicional. Por esto, su validación es muy necesaria antes de adoptarlas como un nuevo método de tratamiento (Mayoral-Peña *et al.*, 2017; Moreno *et al.*, 2010). La planta *Moringa oleifera* Lam. conocida comúnmente como moringa o ben, es una especie de árbol originario del norte de La India. (Páez-León *et al.*, 2018). Recientemente se ha demostrado que *M. oleifera* tiene la presencia de importantes fitoquímicos responsables de sus propiedades curativas. En uno de los primeros estudios exhaustivos sobre la composición química de esta especie se reveló que es rica en varias sustancias muy peculiares, como glucosinolatos, isotiocianatos, flavonoides, antocianinas, proantocianidinas y cinamatos (Benett *et al.*, 2003). Páez-León *et al.*, (2018) notifica que el extracto de acetato de etilo (AcOET) de la planta *M. oleifera* presentó un efecto inhibitorio contra la eclosión de huevos y la mortalidad de larvas infectantes L₃ del nematodo parásito de ovinos *H. contortus*, por lo que se puede utilizar como una alternativa de control.

En otro estudio realizado *in vitro* se evaluó el efecto del extracto hidroalcohólico (EHA) de vainas de *Caesalpinia coriaria* sobre la mortalidad de larvas L₃ de *H. contortus* donde la fracción orgánica (FAcOEt) muestran una actividad biológica importante contra *H. contortus*, que puede ser aprovechada para generar una alternativa al uso de los antihelmínticos químicos que se utilizan tradicionalmente para el control de la parasitosis gastrointestinal en pequeños rumiantes (García-Hernández *et al.*, 2018); de manera similar, son los resultados que se demuestra en el estudio de la acción antihelmíntica del aceite esencial de *Anethum graveolens* sobre huevos y larvas de *H. contortus* (Castro *et al.*, 2020). También, en otro estudio donde evaluaron el extracto hidroalcohólico de vainas de *Cassia fistula* (CF), sobre la inhibición de la eclosión de huevos de los nematodos

gastrointestinales de ovinos; permitió determinar que CF inhibe la eclosión de huevos entre un 21 y 30% a las diferentes concentraciones evaluadas (50, 25, 12.5 y 6.25 mg/mL). Este efecto se podría deber principalmente al contenido de fenoles, flavonoides, taninos, alcaloides, proantocianidinas, terpenos y glicósidos; identificados en las semillas, pulpa y vainas; los cuales han sido identificados en otras plantas que han demostrado actividad inhibitoria de la eclosión de huevos y nematodos gastrointestinales (Bastida-Zaragoza *et al.*, 2018).

3.4 Hongos comestibles

La mayoría de las personas consume hongos comestibles por su excelente sabor, aroma, y textura. Estas propiedades son únicas y diferentes a las aportadas por otros alimentos ampliamente consumidos, ya que los hongos constituyen un reino de la naturaleza independiente de las plantas y los animales (Martínez-Carrera, 2004).

En el mundo dada la gran biodiversidad que existe, se estima que el número de especies de hongos puede llegar hasta 1.5 millones (Hawksworth, 1991, 2001); de las cuales 10% son conocidas, y de ellas el 50% son consideradas comestibles, más de 2000 son seguras, y unas 700 especies son conocidas por poseer importancia farmacológica (Lull *et al.*, 2005). La producción comercial de hongos comestibles es una actividad relevante en México, desde el punto de vista social, económico y ecológico. Se estima que los volúmenes de producción ascienden a más o menos 38,708 toneladas anuales de hongos frescos. Nuestro país genera alrededor del 59% de la producción total de Latinoamérica, ubicándose como el 18o. productor a nivel mundial (Martínez-Carrera, 1991; Martínez-Carrera, 2004).

3.4.1 Ciclo biológico de los hongos macromicetos

Los hongos saprófitos son muy abundantes, viven sobre materia orgánica en descomposición y son los más fáciles de cultivar. Por ejemplo: las setas *Agaricus bisporus*, *Pleurotus* spp., *Lentinula edodes* (shiitake), etc. pertenecen a los hongos macromicetos. La metodología actual para el cultivo de setas saprófitas consiste esencialmente en obtener micelio secundario por clonación de la especie a través de una pequeña porción de seta (Figura 3). El micelio así obtenido es multiplicado sobre granos de cereales y convertido en “semilla” de setas o “blanco” (Ortiz- Berrocal *et al.*, 2013).

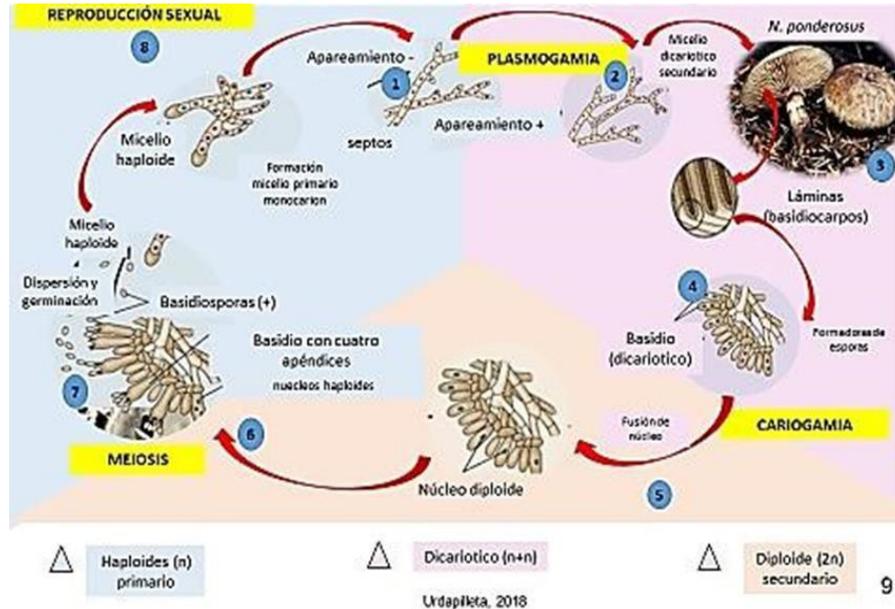


Figura 3.- Ciclo biológico de los hongos basidiomicetes. Fuente: Flores, 2015.

3.5 Género *Pleurotus*

Las propiedades medicinales de los hongos comestibles cultivados no sólo se han detectado en los esporomas, sino también, en el micelio e incluso en el medio de cultivo derivado del crecimiento micelial (Figura 4) (Tabla 1) (Rosado *et al.*, 2002; Martínez-Carrera *et al.*, 2016).

Estas propiedades han sido ampliamente documentadas en las principales especies cultivadas y en el caso de *P. djamor* se han reportado compuestos bioactivos con propiedades anticancerígena, inmunomoduladora, antibiótica (antimicrobianas, antiviral, antifúngica), antiparasitaria, antioxidante, antiinflamatoria, antidiabética, antilipídica y hepatoprotectora. La fuente de antibióticos fue desarrollada por Hervey y Wilkins en 1941, cuando estudiaron extractos del basidioma y del micelio de algunas especies, detectando actividad antibiótica (Brizuela *et al.*, 1998). Actualmente, debido al desarrollo de nuevas tecnologías de fermentación y la purificación, los basidiomicetos se convirtieron en la fuente potencial de nuevos antibióticos (Gragg *et al.*, 1997, Brizuela *et al.*, 1998, Suay, 2000, Rosa *et al.*, 2003, Stamets, 2006). En España, por ejemplo, se colectaron 204 especies de basidiomicetos, entre los cuales 109 presentaron actividad antimicrobiana (Suay, 2000).



Figura 4.- *Pleurotus* spp. (a) Crecimiento del hongo *Pleurotus* spp. en paja de trigo, (b) Cuerpo fructífero de *Pleurotus* spp. Fuente: Propiedad de la autora del presente estudio.

Tabla 1.- Propiedades medicinales en el hongo comestible *Pleurotus djamor*.

Propiedad	Micelial	Metanólico	Etil acetato	Etanólico	Hexano/ cloroformo	Referencia
Antibacteriana	●		●	●		Das <i>et al.</i> , (2017); Rosa <i>et al.</i> , (2009); Suresh <i>et al.</i> , (2017); Acharya y Saha, (2011); Milton <i>et al.</i> , (2017)
Antioxidante		●		●	●	Valencia del toro <i>et al.</i> , (2008); Guzmán <i>et al.</i> , (2009); Sudha <i>et al.</i> , (2016)
Antifúngica				●		Acharya y Saha, (2011)
Hepatoprotectora	●					Zhang <i>et al.</i> , (2016)
Antidiabética	●					Zhang <i>et al.</i> , (2015)
Inmunomoduladora		●				Carbonero <i>et al.</i> , (2006)
Antioxidante		●			●	Yoon <i>et al.</i> , (2012); Acharya <i>et al.</i> , (2017); Milton <i>et al.</i> , (2017)
Anticancerígena	●	●		●		Ho <i>et al.</i> , (2004); Carbonero <i>et al.</i> , (2006); Wu <i>et al.</i> , (2010); De Barba <i>et al.</i> , (2011)
Antiparasitaria				●	●	Rosa <i>et al.</i> , 2019; Pineda. Alegría <i>et al.</i> , (2017); Rodríguez Alexándre <i>et al.</i> , (2017)
Antiinflamatoria		●				Elgorashi <i>et al.</i> , (2008); Carbonero <i>et al.</i> , (2008)
Antiviral		●				Kidukuli <i>et al.</i> , (2010)
Antilipidémica		●				Yoon <i>et al.</i> , (2012)

Salmones (2017)

3.5.1 El hongo *Pleurotus* spp. como agente potencial de control de nematodos parásitos

Respecto a las propiedades nematocidas, 23 especies del género *Pleurotus* son activas contra nematodos (Li y Zhang, 2014). Además, a la fecha se han aislado metabolitos y componentes con actividad nematocida algunos productos como las proteasas (André-Genier *et al.*, 2015), ácidos grasos ((i) pentadecanoico, (ii) hexadecanoico, (iii) octadecadienoico, (iv) ácido octadecanoico) (Pineda-Alegría *et al.*, 2017), alcaloides, compuestos peptídicos, terpenos (β -sitosterol) (Li *et al.*, 2007), taninos condensados y compuestos fenólicos (Ganeshpurkar *et al.*, 2012), quinonas (Li y Zhang, 2014) obtenidos de *Pleurotus* spp. tienen actividad antiparasitaria mostrada (Shariat *et al.*, 1994, Palizi *et al.*, 2009, Del Carmen *et al.*, 2015). Los metabolitos producidos por las especies de *Pleurotus* tienen características nutraceuticas y han sido principalmente aisladas de basidiomas del hongo.

Los hongos productores de nematotoxinas de este género que se mencionan en la literatura son: *Pleurotus ostreatus* y *P. eryngii* (Wasser, 2014). El género *Pleurotus* también llamado productor de nematotoxinas presenta actividad nematocida contra diferentes géneros taxonómicos de nematodos parásitos (*H. contortus*) y de vida libre (*Caenorhabditis elegans*). Las hifas del hongo contienen una nematotoxina que tras ponerse en contacto con el nematodo es rápidamente inmovilizado y es digerido por el hongo produciendo micelio que invade por la cavidad oral, ano y cutícula del nematodo (Thorn y Barron, 1984; Mendoza de Gives, 2012) (Figura 5).



Figura 5- Larva del nematodo de vida libre *Panagrellus redivivus* inmovilizada y digerida por el micelio del hongo *Pleurotus ostreatus* (10X). Fuente: (Aguilar-Marcelino *et al.*, 2017a).

Asimismo, se ha reportado el aislamiento y caracterización de la estructura química de una nematotoxina llamada “NRRL 3526” a partir de *P. ostreatus* en contra del nematodo bacteriófago *Panagrellus redivivus*, el cual inhibe en un 95% la población de estos nematodos a una concentración de 300 ppm en un tiempo de 1 h y se ha comparado la actividad con la “ostreanina” (Kwok *et al.*, 1992).

En otro estudio realizado por Satou *et al.* (2008) se notificó que *P. ostreatus* produce una toxina que reduce el tamaño de la parte anterior de los nematodos de vida libre (Familia Diplogastridae). Otro hongo que ha mostrado efectos nematocidas es *P. eryngii* que ha demostrado una importante actividad en contra de algunas especies de nematodos fitopatógenos (agalladores) y sus quistes (*Meloidogyne javanica*, *Heterodera schachtii* y *Bursaphelenchus xylophilus* (Palizi *et al.*, 2009). El hongo *Pleurotus ferulae* (Lanzi) demostró tener actividad nematocida contra dos diferentes géneros: *B. xylophilus* y *P. redivivus* (Li *et al.*, 2007). A continuación, se presenta una lista de compuestos aislados a partir de *Pleurotus* spp. y su eficacia contra diferentes grupos taxonómicos de helmintos (género/especie) (Aguilar-Marcelino *et al.*, 2017) (Tabla 2).

Tabla 2.- Compuestos aislados a partir del hongo comestible *Pleurotus* spp. y su eficacia contra diferentes grupos taxonómicos de helmintos (género/especie).

Especie	Compuesto nematocida	Nombre científico	Eficacia (%)	Referencias
<i>P. ferulae</i>	Cheimonophyllon E	<i>Bursaphelenchus xilophilus</i> , (nematodo parásito de la madera de pino)	---	Li <i>et al.</i> , (2001, 2007)
	5-hydroxymethylfurancarbaldehyde			
<i>P. ostreatus</i>	Trans-2-decenedioic acid	<i>Panagrellus redivivus</i> (nematodo de vida libre)	95	Kwok <i>et al.</i> , (1992)
	p-anisaldehyde	<i>Caenorhabditis elegans</i> (nematodo de vida libre)	---	Stadler <i>et al.</i> , (1994) Koitabashi <i>et al.</i> , (2004)
p-anisyl alcohol				
1-(4-methoxyphenyl)-1,2propanediol				
2-hydroxy-(4'-methoxy) propiophenone.				
<i>P. pulmonarius</i>	S-coriolic acid			

Aguilar-Marcelino *et al.*(2017)

3.6 *Neolentinus ponderosus*

El hongo *N. ponderosus* (Figura 6), conocido tradicional como “Cojcomon” (nombre en lengua náhuatl y según los pobladores significa “hongo de tronco”). Se ha notificado que crece sobre troncos podridos de coníferas, especialmente sobre *Pinus ponderosa*. En México, se ha recolectado sobre troncos de *Pinus* spp. y *Quercus* spp. en los meses de mayo y junio, con un poco de humedad en el suelo. El hongo *N. ponderosus* es saprobio (Zuluaga-Jiménez *et al.*, 2017).

Anteriormente, las especies que conforman el género *Neolentinus* estuvieron incluidas dentro del género *Lentinus*; sin embargo, (Redhead, 1985) notificó que si bien, las especies

de *Neolentinus* no tienen diferencias microscópicas significativas con las de *Lentinus*, el primero causa pudrición café en la madera y el segundo causa pudrición blanca, inicialmente estas características permitió separar ambos géneros (Mahler-Julia, 2006; Wood y Stevens, 2007). *N. ponderosus* se encuentra desde Guatemala hasta Estados Unidos y *N. lepideus* se encuentra en América y Europa (Pegler, 1983; Mahler, 2006; Wood y Stevens *et al.*, 2007). También estudios filogenéticos indicaron, que los hongos pleurotooides-lentinoides pueden separarse en cuatro clados, correspondientes a *Pleurotus*, *Lentinus*, *Panus* y *Neolentinus* (Lechner & Wright, 2002; Lechner *et al.*, 2004).



Figura 6.- Cuerpo fructífero del hongo comestible *Neolentinus ponderosus*. Fuente: Propiedad de la autora del presente estudio.

En la tabla 3 se presenta la clasificación taxonómica (O.K.Mill.) Redhead & Ginns,1985; Hawksworth *et al.*,1995.

Tabla 3. Clasificación del hongo *Neolentinus ponderosus*

Reino	Fungi
Phylum:	Basidiomycota
Clase:	Agaricomycetes
Orden:	Gloeophyllales
Familia:	Gloeophyllaceae
Género:	Neolentinus
Especie :	<i>Neolentinus ponderosus</i>

3.6.1 Propiedades medicinales de *Neolentinus ponderosus*

El hongo comestible *N. ponderosus* es una especie que se encuentra en la región Pacífico-Noroeste de América del Norte, también se ha notificado en México (Zualaga-Jiménez *et al.*, 2017; Pegler, 1983; Moreno-Fuentes *et al.*, 1996). Es un hongo que presenta potencial para su cultivo (Zualaga-Jiménez *et al.*, 2017). Adicionalmente posee un valor nutricional de vitaminas y minerales, así como otros componentes como los aminoácidos y los polisacáridos, por su similitud con el hongo *N. lepidens* que pertenece al mismo género y que se han determinado compuestos como de tipo policétidos como: 5metoxiisobenzofuran-4,7(1H,3H)-dioneona y han mostrado la inhibición del óxido nítrico, 1,3-dihidroisobenzofuran-4,6-diol y un derivado de la benzoquinona que se ha atribuido actividad antioxidante (Li *et al.*, 2013; Yang *et al.*, 2017).

3.7. Uso y cuidado de animales destinados a la investigación

En los estudios de Posgrado se reconoce la función esencial del uso de animales vivos en la investigación y la educación para generar conocimiento nuevo que ayude a mejorar la productividad de las especies pecuarias y de fauna silvestre de interés socioeconómico para México. Además de coadyuvar con el uso eficiente de estas especies en los diferentes sistemas agropecuarios existentes en el país, para atender la alimentación humana.

Considerando lo anterior, es necesario que se garantice un trato humanitario y digno, cuando los animales se utilizan con este propósito. Es importante que se establezca un reglamento para el uso y cuidado de animales destinados a la investigación (COLPOS, 2016).

También es de suma importancia identificar e interpretar el comportamiento (etología) de los animales destinados a la investigación. Existen tres tipos de comunicación entre los animales: químico, corporal y sonoro, este último lo utiliza la mayoría de los animales para emitir señales a distancia que varían respecto a la especie, el ambiente y mecanorreceptores. Las vocalizaciones de las diferentes especies se han dividido en señales neonatales, integrativas, de competencia y sexuales; las primeras son necesarias para estimular el comportamiento epimilético que involucra los cuidados y la atención materna (acicalamiento, lactación, limpieza anogenital), así como las demandas de las crías a sus padres (Verduzco-Mendoza, 2012). Con base a lo anteriormente mencionado se determina el comportamiento etológico de cada animal, en este sentido la organización mundial de sanidad animal (OIE) basa sus principios (Figura 7).



Figura 7.- Seis libertades que propone la organización mundial de sanidad animal para el uso y cuidado de animales destinados a la investigación. Fuente: Propiedad de la autora del presente estudio.

3.8 Jerbos (*Meriones unguiculatus*)

Está notificado que en el mundo hay más de 80 especies de jerbos, de los cuales los que más se conocen son los de Mongolia, su origen es el desierto de Mongolia y China. Son mamíferos roedores con medidas de 18 a 24 cm de largo, sus características físicas son sus orejas grandes y cubiertas de pelo, ojos grandes y negros. El ciclo de vida de un jerbo es corto y solo alcanzan a vivir de tres a cuatro años (Figura 8), su madurez sexual es alcanzada a los tres meses de edad y desde entonces la hembra presenta celo cada 28 días y el periodo de gestación oscila entre los 21-25 días (Flores-Acebedo *et al.*, 2010; Ramírez-Robledo *et al.*, 2017) (Figura 9).

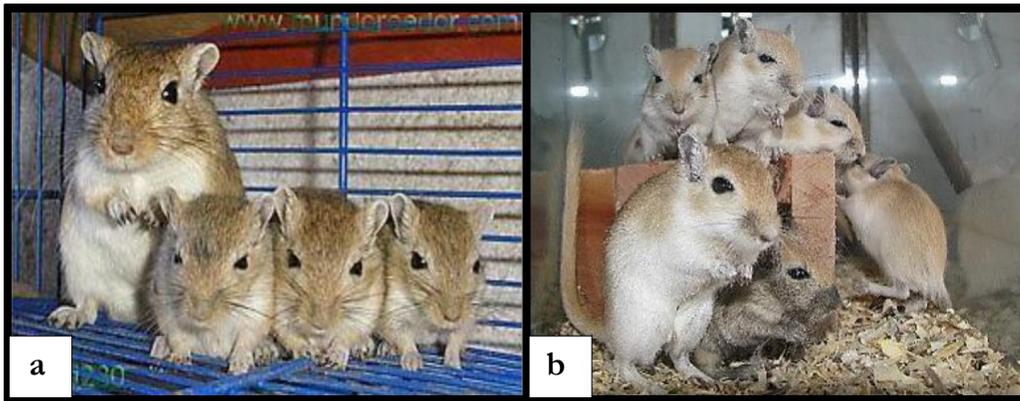


Figura 8.- Colonia de jerbos. (a) Jerbos en una jaula. (b) Colonia de jerbos en confinamiento en el Bioterio del Instituto Nacional de salud pública. Fuente: Propiedad de la autora del presente estudio.

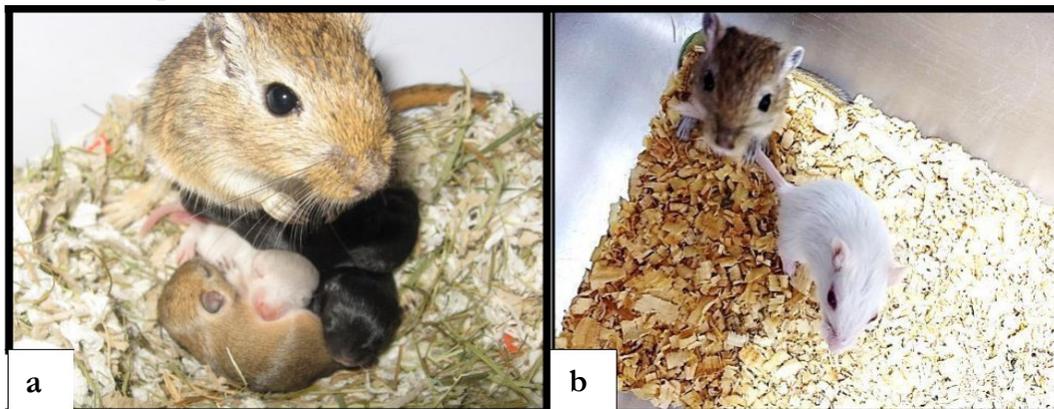


Figura 9.- El jerbo. (a) Jerbo con sus crías, (b) Jerbos después del destete. Fuente: Propiedad de la autora del presente estudio.

En la tabla cuatro se presenta la clasificación taxonómica (Milne-Edwards, 1984).

Tabla 4. Clasificación de *Meriones unguiculatus*

<u>Reino</u>	<u>Animalia</u>
Phylum:	<u>Chordata</u>
<u>Clase:</u>	<u>Mammalia</u>
<u>Orden:</u>	<u>Rodentia</u>
Suborden:	<u>Myomorpha</u>
Superfamilia:	<u>Muroidea</u>
<u>Familia:</u>	<u>Muridae</u>
Subfamilia:	<u>Gerbillinae</u>
<u>Género:</u>	<u>Meriones</u>
Subgénero:	<u>Pallasiomys</u>
<u>Especie:</u>	<i>Unguiculatus</i>

3.9 *Haemonchus contortus*

3.9.1. Biología

El nematodo *H. contortus* (Figura 10) se considera como el parásito más patógeno que se encuentra en los animales domésticos, principalmente de pequeños rumiantes como las ovejas (*Ovis orientalis aries*) y cabras (*Capra aegagrus hircus*), se ha notificado que puede afectar a otros rumiantes, como ciervos salvajes, camellos y llamas. Su distribución es mundial, encontrándose en todas las razas de ovinos y caprinos. En los animales adultos se puede encontrar habitando en el abomaso, y se ha notificado como el nematodo más dañino por su acción rápida de alimentarse de la sangre (hematófago) y del tejido (histiotrófico) del hospedador (Bush *et al.*, 2001).



Figura 10.- Larvas (L₃) de *Haemonchus contortus* (10x). Fuente: Propiedad de la autora del presente estudio.

3.9.2. Taxonomía

Haemonchus es un género de nematodos estrogilidos de la familia *Trichostrongylidae* parásitos del ganado; habitan en el abomaso y son hematófagos (Martínez-Santiago, 2014).

En la tabla 5 se presenta la clasificación taxonómica (Sánchez, 2006).

Tabla 5. Clasificación de *Haemonchus contortus*

Reino	Animalia
Phylum:	Nematelmintos
Clase:	Nematoda
Orden:	Strongylida
Superfamilia:	Trichostrongyloidea
Familia:	<i>Trichostrongilidae</i>
Género:	<i>Haemonchus</i>
Especie:	<i>H. contortus</i>

3.9.3. Fisiología

El nematodo *H. contortus* (Figura 11) es el estróngilo más grande (2-3 cm); las hembras de *H. contortus* son más voluminosas con ovarios blancos enrollados en forma espiral alrededor del intestino de color rojo (debido a que está repleto de sangre) dando la apariencia de palo de peluquería (Kassai, 2002). El nematodo *H. contortus* macho mide de 10 a 20 mm de largo. En cambio, la hembra mide de 18 a 30 mm de largo (Quiroz, 1984). El macho posee un lóbulo asimétrico dorsal y espículas; la hembra usualmente tiene una protuberancia cuticular transparente alrededor de la abertura vulvar. En ambos sexos hay papilas cervicales y tienen pequeñas lancetas dentro de la cápsula bucal. Las L₃ poseen 16 células intestinales; la cabeza es estrecha y de forma redondeada, la vaina de la cola es el bulbo reproductor. Los huevos son de tamaño medio (74 x 44 µm), posee un borde elíptico regular con aspecto de barril y numerosos blastómeros que casi llenan todo el huevo (Taylor *et al.*, 2007).

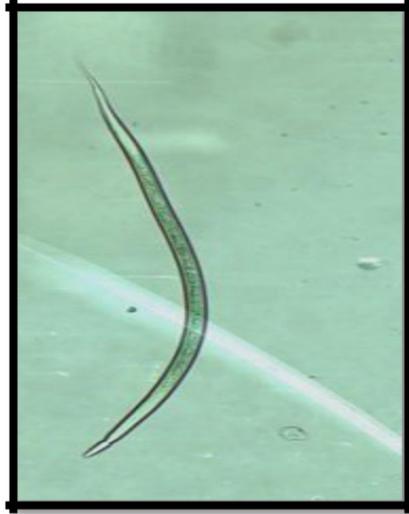


Figura 11.- Larva infectante de *Haemonchus contortus* con vaina. Fuente: (Castañeda, 2018).

3.9.4. Ciclo biológico del nematodo parásito de ovinos *Haemonchus contortus*

El ciclo biológico de *H. contortus* inicia cuando los huevos son eliminados por medio de las heces hacia el medio ambiente (Figura 12), una vez que las heces se encuentran en el suelo, los parásitos al ser expuestos a condiciones óptimas de una humedad relativa que oscila de 70% a 80% y a una temperatura de 28 °C, inicia su desarrollo. Este periodo se lleva a cabo alrededor de 1 a 2 días, en el que los huevos embrionados o larvados eclosionan y dan origen a una larva del primer estadio (L₁) y estas a su vez, sufren nuevamente otra muda o pérdida de una capa superficial de su cutícula, convirtiéndose en estadio larvario 2 (L₂). Estas larvas se nutren de detritus y de material vegetal, bacterias, gránulos de pólen, etc., que contienen las heces, para posteriormente de 2 a 3 días vuelvan a mudar convirtiéndose finalmente en larva del tercer estadio (L₃) o larvas infectantes. Estas larvas necesitan de la envoltura externa o vaina, ya que le protege de los factores externos del medio ambiente, y de esta forma mantiene su homeostasis interna. Esta cutícula externa (doble cutícula) le impide alimentarse y defecar, por lo que para poder sobrevivir, tiene que utilizar sus reservas energéticas que resguarda en las células intestinales (Liébano *et al.*, 2011; González, 2013).

Las larvas L₃ tienen una gran actividad por las primeras horas del día y por las tardes, al descender la intensidad de la luz, ya que a estas horas es cuando las L₃ emergen de la humedad del suelo, para escalar los tallos del pasto y llegar a la cima para que los ovinos las ingieran y de esta forma es como se infecta el ganado. Una vez que las L₃ son ingeridas junto con el forraje, estas siguen su trayecto a través del tubo digestivo y al llegar al rumen son liberadas de su vaina. Una vez que las larvas han sido desenvainadas penetran la mucosa del abomaso donde llevan a cabo otras dos mudas (L₄) y quinto estadio (L₅) y finalmente alcanzar la fase adulta, para llevar a cabo la diferenciación sexual entre machos y hembras (Liébrano *et al.*, 2011; Rodríguez-Vivas *et al.*, 2017).

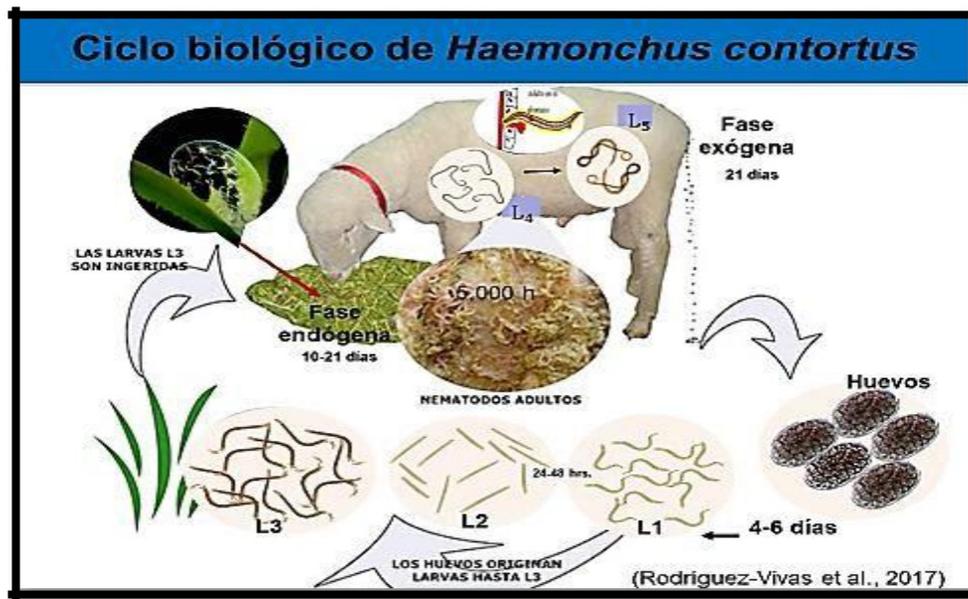


Figura 12.- Ciclo biológico de *Haemonchus contortus*. Fuente: (Rodríguez-Vivaz *et al.*, 2017).

En la presente investigación se estudió el efecto del extracto hidroalcohólico del hongo comestible *N. ponderosus* (EHNP) si posee actividad contra el nematodo *H. contortus* utilizando como modelo experimental el jerbo (*Meriones unguiculatus*).

4. JUSTIFICACIÓN

Los NGI ocasionan un impacto negativo en la ganadería mundial y nacional, el control químico ha sido utilizado por los productores de manera frecuente e indiscriminada, el uso y abuso de estos productos antihelmínticos ha provocado el desarrollo de la RA, adicionalmente el daño a organismos benéficos, por tal motivo, es importante y urgente buscar nuevas estrategias sustentables para el control de los NGI. Los hongos comestibles poseen propiedades nutracéuticas destacando su uso particularmente como antiparasitarios. En el presente estudio se planteó evaluar el efecto del extracto hidroalcohólico de la biomasa del hongo *N. ponderosus* contra el nematodo parásito de ovinos *H. contortus*.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Evaluar el efecto del extracto hidroalcohólico de la biomasa del hongo *Neolentinus ponderosus* contra el nematodo *Haemonchus contortus*.

5.1.2 Objetivos específicos

- Evaluar el efecto *in vitro* del extracto hidroalcohólico de la biomasa del hongo *N. ponderosus* sobre la viabilidad de las larvas infectantes (L3) del nematodo parásito de ovinos *H. contortus*.
- Evaluar el efecto *in vivo* en jerbos infectados con *H. contortus* del extracto hidroalcohólico de la biomasa del hongo *N. ponderosus* sobre la viabilidad del nematodo *H. contortus*.

6. HIPÓTESIS

El extracto hidroalcohólico del hongo *N. ponderosus* presentará una letalidad de al menos 80% sobre el nematodo *H. contortus* (L₃) evaluado tanto *in vitro* como *in vivo*.

7. MATERIAL Y MÉTODOS

En la figura 13, se describe el procedimiento que se llevo a cabo en el presente estudio; las dos etapas de las cuales consistio el diseño experimental *in vitro* e *in vivo*, en el primer diseño se obtuvo la biomasa del hongo *N. ponderosus* en medio líquido, posteriormente la elaboración del extracto hidroalcohólico. También la obtención de las larvas L₃ de *H. contortus*, de manera seguida la realización de los bioensayos *in vitro* y el análisis estadístico.

En el diseño experimental *in vivo* se conformaron los grupos de jerbos, posteriormente se desparasitaron (fenbendazol) 20 mg/mL por tres días, se inmunosuprimieron (dexametaxona) 5 mg/mL por tres días, se llevo a cabo la infección artificial a los jerbos con 10,000 larvas sin vaina de *H. contortus*, se les administró el EHNP y finalmente se llevo a cabo el sacrificio de los jerbos (5 días post-tratamiento) donde se obtuvo el porcentaje de mortalidad parasitaria.

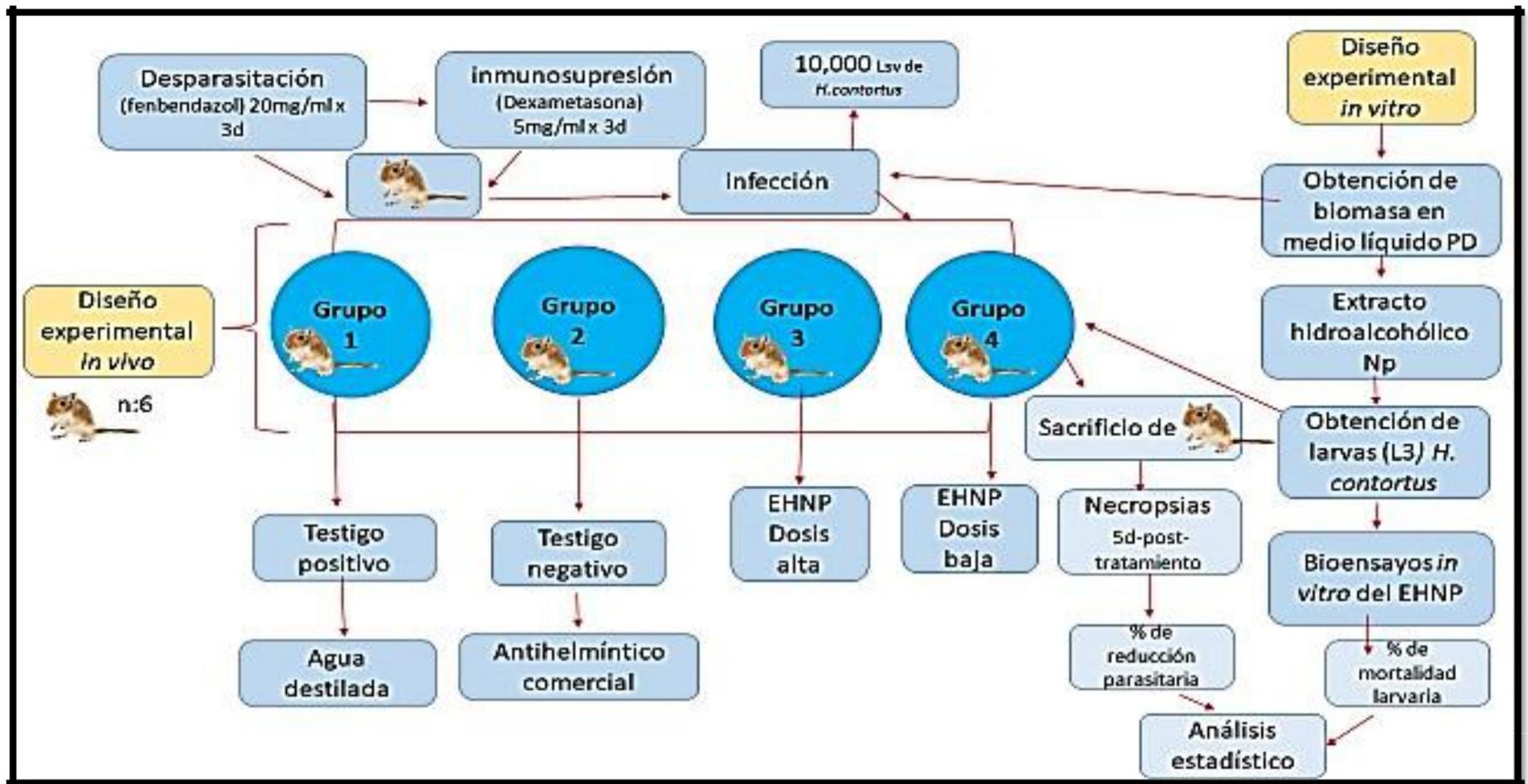


Figura 13. Metodología seguida para la realización del presente trabajo. Fuente: Propiedad de la autora del presente estudio

7.1 Localización

La presente investigación se realizó en el Laboratorio de Micología del Centro de Investigaciones Biológicas de la UAEM localizado en Av. Universidad 1001 Col. Chamilpa Cuernavaca, Morelos y en el Laboratorio de Helmintología Centro Nacional de Investigaciones Disciplinarias (CENID- SAI, SALUD ANIMAL e INOCUIDAD, INIFAP) localizado en el Municipio de Jiutepec del estado de Morelos, México y en el Bioterio del Instituto Nacional de Salud Pública (INSP), Cuernavaca, Morelos, México (Figura 14).



Figura 14.- Centros e Institutos de Investigación donde se realizó el presente estudio. Fuente: Propiedad de la autora del presente estudio.

7.2 Cepa de *N. ponderosus*

Se trabajó con la cepa de *Neolentinus ponderosus* clave de registro: HEMIM-135, proporcionada por el Centro de Investigaciones Biológicas (CIB) de la Universidad Autónoma del estado de Morelos (UAEM)

7.2.1. Condiciones de cultivo y obtención de biomasa de *Neolentinus ponderosus*

Se realizó la preparación de dos medios de cultivo líquido, el primero fue en medio de salvado (MS) que tenía la siguiente composición: glicerol 10 g/L, glucosa 4g/L, extracto de levadura 4g/L, salvado 5g/L; el segundo cultivo líquido fue de papa dextrosa (PD) se realizó con la siguiente composición en g/L: glucosa 14g, infusión de papa de 280g. Se realizaron por triplicado en matraces Erlenmeyer de 250 mL con 100 mL de medio líquido (Figura 15). Se inoculó cada matraz con tres fragmentos de micelio (6 mm) a partir del micelio crecido en agar dextrosa papa. Se inocularon los matraces y posteriormente se incubaron a 25°C con agitación orbital a 120 rpm durante siete, 14 y 21 días. La biomasa producida se separó por filtración y se congeló a -80°C durante 24 h (Gaitán-Hernández *et al.*, 2006).



Figura 15.- Crecimiento de la biomasa de *Neolentinus ponderosus* en medio líquido de papa dextrosa. Fuente: Propiedad de la autora del presente estudio.

7.3 Nematodos

7.3.1 Producción de *Haemonchus contortus* (L3)

Para la obtención de larvas de *H. contortus* se utilizó un ovino (macho) de tres meses de edad, raza Pelibuey, con un peso de 20 kg e infectado vía oral con 350 larvas de *H. contortus* por Kg/p.v. El ovino se mantuvo bajo condiciones controladas de alojamiento (corrales)

y alimentación (agua y comida) durante 21 días en el Centro Nacional de Investigación Disciplinaria Salud Animal e Inocuidad (CENID-SAI, INIFAP). La infección se verificó utilizando la técnica de Mc Master, las heces se colectaron en una palangana (Figura 16). Las muestras frescas (heces) se humedecieron con agua corriente y se mezclaron homogéneamente con hule espuma en una proporción 1:1, obteniendo así un coprocultivo (Anexo 1) para la obtención de larvas infectantes (Liébano-Hernández *et al.*, 2011). El coprocultivo fue removido cada tercer día y se mantuvo durante 7 días a 25 ° C (Pineda-Alegría *et al.*, 2017). Después de la incubación se recuperaron las larvas L₃, mediante la técnica del embudo Baermann durante 12 h (Casillas *et al.*, 2008, Liébano-Hernández *et al.*, 2011).



Figura 16.- Ovinos, raza Pelibuey en jaulas metabólicas en el Centro Nacional de Investigación Disciplinaria (CENID-SAI SALUD ANIMAL e INOCUIDAD, INIFAP). Fuente: CENID-SAI, INIFAP.

7.3.2 Limpieza de larvas de *Haemonchus contortus*

En un tubo de ensayo de 15 mL se les agregó 8 mL de solución de sacarosa al 40% (Figura 17) y 2 mL de la muestra que contenía larvas recuperadas del coprocultivo, posteriormente se centrifugó a 3500 rpm durante 5 min para obtener un gradiente de densidad y recuperar a un paquete de las larvas limpias; el anillo de L₃ se recuperó con pipeta Pasteur de 1 mL

y se vertió en un tubo limpio (Figura 18). Finalmente, se realizaron cuatro enjuagues con agua destilada estéril, centrifugando a 3500 rpm durante tres minutos (Liébano, 2010).

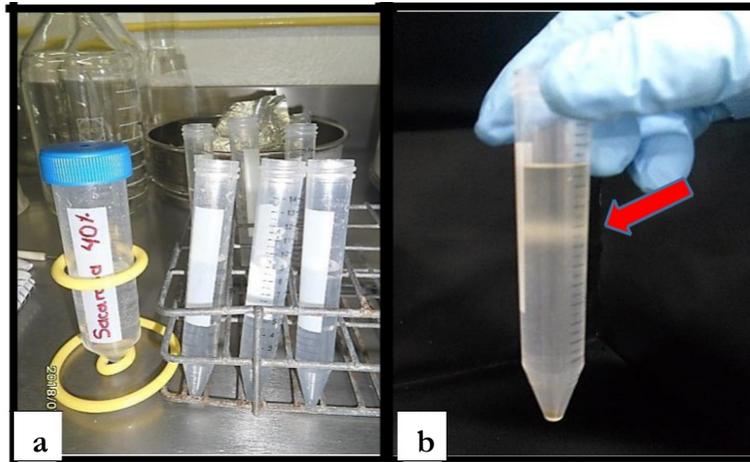


Figura 17.- Limpieza de larvas. (a) Limpieza con sacarosa al 40%, (b) Gradiente de sacarosa para recuperar larvas en proceso de limpieza. Fuente: Propiedad de la autora del presente estudio.

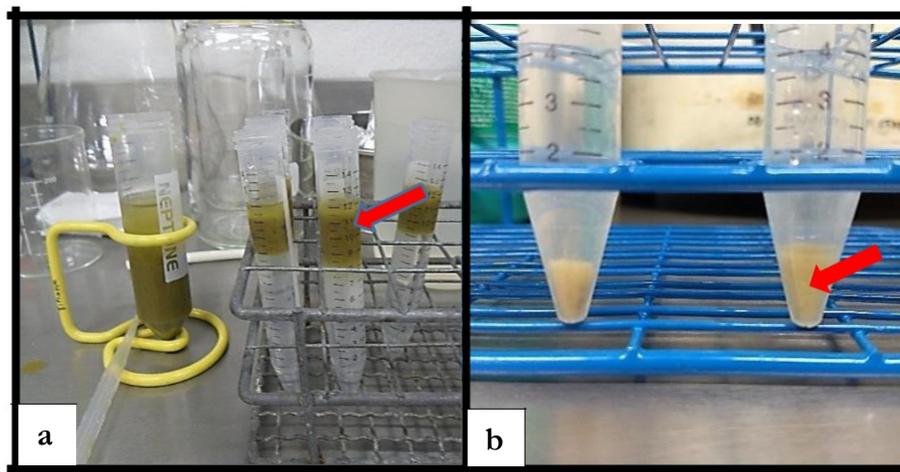


Figura 18.- Larvas con restos de heces y larvas limpias. (a) Larvas de *Haemonchus contortus* sucias, (b) Larvas de *Haemonchus contortus* limpias. Fuente: Propiedad de la autora del presente estudio.

7.3.3 Eliminación de la vaina de larvas (L₃) de *Haemonchus contortus*

Para la eliminación de la vaina de larvas L₃ de *H. contortus* (Figura 19) se utilizó hipoclorito de sodio comercial al 6% y se prepararon 10 mL a 0.187 % donde fueron expuestas durante 9 min. Después se realizaron cuatro lavados con agua destilada, centrifugando durante 1 minuto a 3500 rpm para eliminar el hipoclorito de sodio. Posteriormente, las larvas se recuperaron en tubos Falcón de 50 mL (Liébano-Hernández *et al.*, 2011).

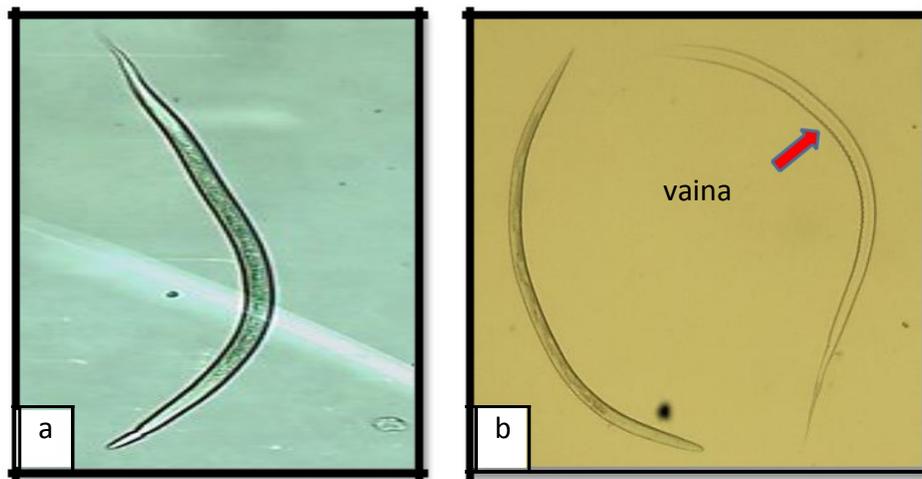


Figura 19.- Larvas con y sin vaina de *Haemonchus contortus*. (a) Larva L₃ de *H. contortus* con vaina, (b) Larva L₃ de *H. contortus* sin vaina (izquierda), vaina (derecha). Fuente: (Castañeda-Ramírez, 2018).

7.4 Animales experimentales jerbos (*Meriones unguiculatus*)

La colonia de este roedor miomorfo pertenecen a la Unidad de Helmintología del Centro Nacional de Investigación Disciplinaria (CENID-SAI, SALUD ANIMAL e INOCUIDAD, INIFAP y se tienen en el Bioterio del Instituto Nacional de Salud Pública (INSP) en Cuernavaca, Morelos. Debido a su rapidez para reproducirse y que el destete se lleva a cabo a temprana edad alcanzando una talla corporal considerable en poco tiempo, aproximadamente para el presente estudio se necesitaron con un peso aproximado de 60 a 80 g.

El lote de jerbos (*Meriones unguiculatus*) estaba compuesto por 48 animales de ambos sexos machos y hembras de 22 semanas de edad, estos se dividieron aleatoriamente en dos lotes de cuatro grupos cada uno y seis individuos por grupo (en un lote se evaluó el EHNP producido a los siete días y el otro con el producido a los 14 días). Los jerbos se colocaron en jaulas y se mantuvieron a temperatura ambiente con agua y alimentos comerciales (*ad libitum*) (Figura 20) (Villareal-Guevara, 2018).

El alimento comercial estaba elaborado con base en una mezcla de granos diversos; además de una presentación de cereal comprimido. Se mantuvieron en un cuarto aislado a temperatura ambiente. Se realizó una prueba de McMáster para verificar que los animales se encuentren libres de parásitos. Se redujo a un mínimo la incomodidad, la angustia y el dolor, al ser compatible con las prácticas científicas correctas para el uso experimental y el mantenimiento de los animales (Schunemann de Aluja *et al.*, 1993; NOM-062-ZOO-1999).

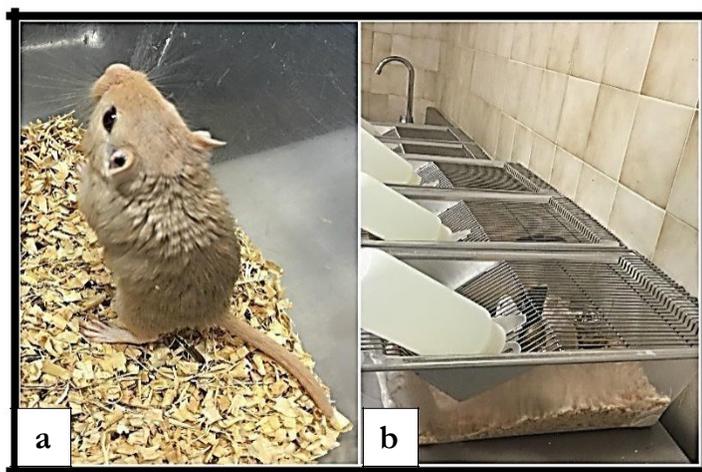


Figura 20.- Jerbo. (a) Jerbo (*Meriones unguiculatus*), (b) Jerbos en jaulas de alambre. Fuente: Propiedad de la autora del presente estudio.

7.5 Obtención del extracto del hongo comestible *Neolentinus ponderosus*

La biomasa se filtró y se guardó en el ultracongelador a -80°C y posteriormente la muestra se llevó a una liofilizadora para secarse al alto vacío y se puso en un matraz Erlenmeyer de

1 L conteniendo el disolvente hidroalcohólico a una proporción 70:30 (etanol-agua). La solución hidroalcohólica (Figura 21) cubrió todo el material en una proporción 3:1, y se dejó en reposo a temperatura ambiente durante 24 h (Figura 21), posteriormente se filtró la solución mediante diferentes filtros, utilizando (gasa, algodón y papel filtro) con la finalidad de obtener un extracto libre de biomasa (Figura 22), seguidamente la muestra se llevó a concentrar utilizando un rotaevaporador (BUCHI, interface 1-300) a una temperatura de 45°C y 50-70 rpm.

El extracto se secó al alto vacío con una presión de 5 pascales (pa) a una temperatura de -85°C, utilizando una liofilizadora (LABCONCO, 4.5 plus) (Figura 23), se cuantificó el peso en una balanza analítica (Pineda-Alegría *et al.*, 2017).

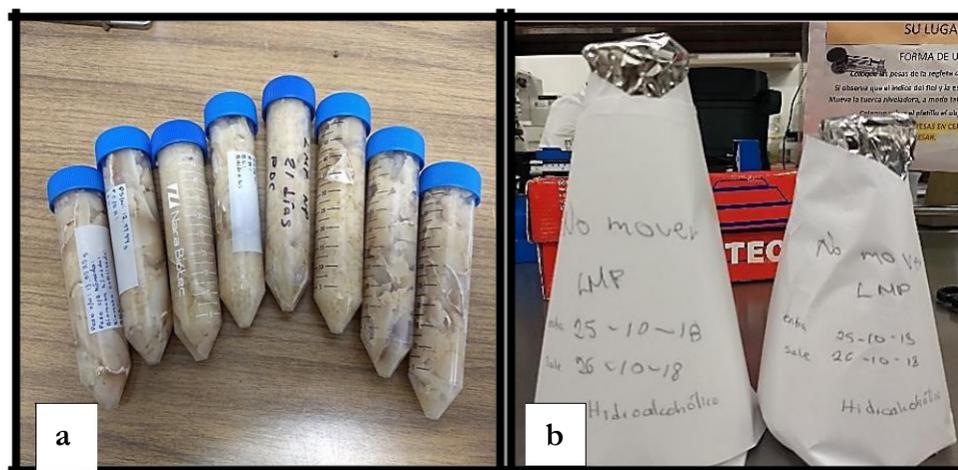


Figura 21.- Biomasa. (a) Biomasa de *Neolentinus ponderosus*, (b) Preparación del extracto hidroalcohólico de *Neolentinus ponderosus*. Fuente: Propiedad de la autora del presente estudio.

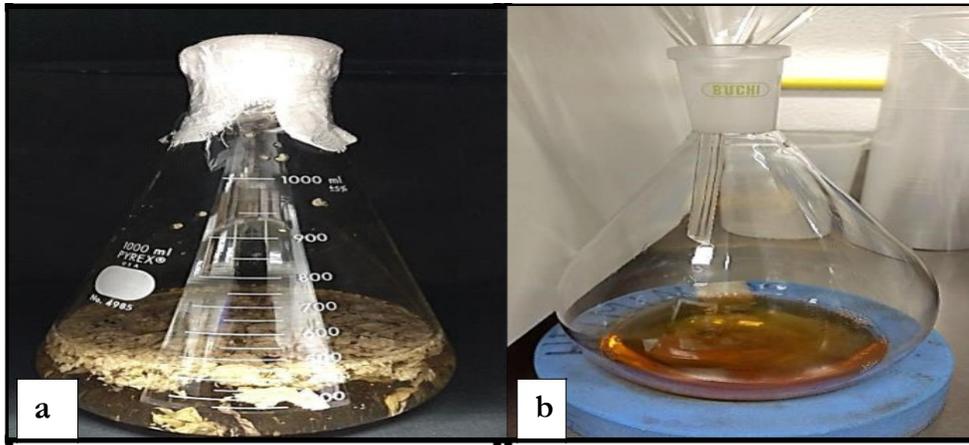


Figura 22.- Manejo de la biomasa. (a) Macerado del hongo *Neolentinus ponderosus* en etanol-agua (70-30), (b) Muestra filtrada del hongo *Neolentinus ponderosus* lista para rotaevaporar. Fuente: Propiedad de la autora del presente estudio.



Figura 23.- Rotaevaporador y liofilizadora. (a) Proceso de rotaevaporación del extracto hidroalcohólico de *Neolentinus ponderosus*, (b) Liofilización del extracto hidroalcohólico de *Neolentinus ponderosus*. Fuente: Propiedad de la autora del presente estudio.

7.5.1 Evaluación *in vitro* del extracto del hongo *Neolentinus ponderosus* contra larvas infectantes (L3) del nematodo parásito de ovinos *Haemonchus contortus* de siete, 14 y 21 días

El bioensayo se realizó en microtubos tipo “Eppendorf” o placa de microtulación de 96 pozos de fondo plano completamente estéril (Figura 24). Todas las muestras del EHNP

(a diferentes concentraciones) fueron sometidas al sonificador de pistilo, para romper la mayor cantidad de moléculas (celulosa, de fibras macro a micro). El diseño experimental se conformó de la siguiente manera: se formaron nueve series de cuatro repeticiones cada una (n=4), el volumen final fue de 100 μ L, se utilizaron larvas (L₃) de *H. contortus*, la primer serie fungió como el grupo testigo negativo que contenía agua destilada, la segunda como grupo testigo positivo que contenía un antihelmíntico comercial, de la serie 3 a la 9 fungió como grupos tratados con los extractos del hongo *N. ponderosus*, se utilizaron diferentes concentraciones: serie 3) 0.03, serie 4) 0.06, serie 5) 0.12, serie 6) 0.24, serie 7) 1, serie 8) 2 y serie 9) 3.40 mg/mL (Figura 25). Se realizó la lectura post-confrontación 72 h en un microscopio óptico (Pineda-Alegría *et al.*, 2017).

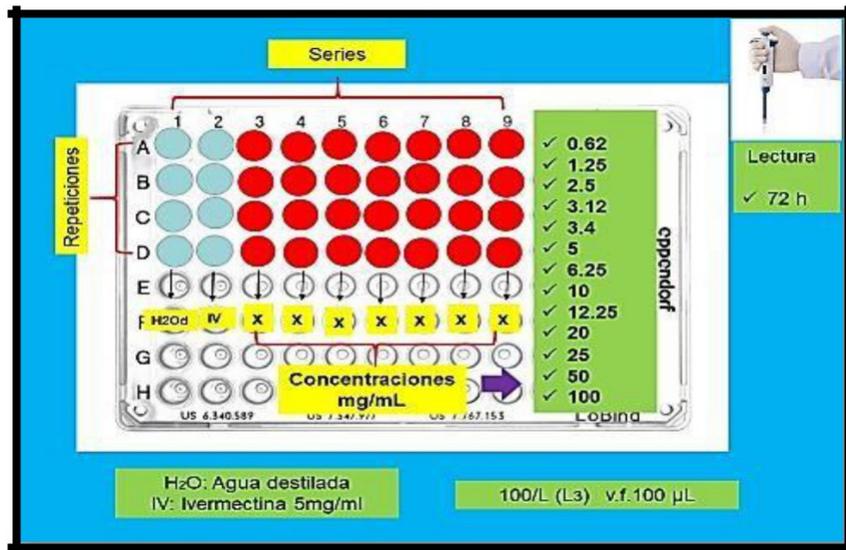


Figura 24.- Esquema de los bioensayos del extracto hidroalcohólico de *Neolentinus ponderosus* contra larvas infectantes (L₃) del nematodo parásito de ovinos *Haemonchus contortus*. Fuente: Propiedad de la autora del presente estudio.

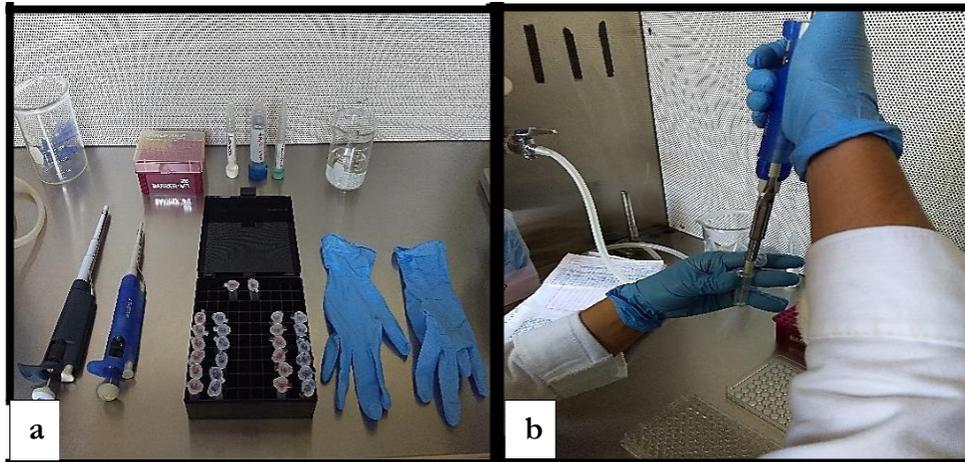


Figura 25.- Bioensayos. (a) Equipo para montar el bioensayo y diferentes concentraciones de material biológico (b) Elaboración de bioensayos del extracto hidroalcohólico del hongo *Neolentinus ponderosus*. Fuente: Propiedad de la autora del presente estudio.

7.6 Análisis estadístico

El porcentaje de mortalidad de larvas (Paéz-León, 2018) fue calculado mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de mortalidad} = \frac{\bar{X} \text{ testigo negativo} - \bar{X} \text{ grupo tratado}}{\bar{X} \text{ testigo negativo}} \times 100$$

El tiempo de lectura fue a las 72 h.

El análisis estadístico se llevó a cabo utilizando un diseño factorial al azar mediante el paquete estadístico SAS (2009) utilizando la fórmula (Paéz-León, 2018):

$$Y_{ijk} = \mu + \text{Extracto}_i + \text{Concentración}_j + \text{Nematodo}_k + (\text{Extracto} * \text{Concentración})_{ij} + (\text{Extracto} * \text{Nematodo})_{ik} + (\text{Extracto} * \text{Concentración} * \text{Nematodo})_{ijk} + \text{Error}$$

Donde:

Y_{ijk} = Variable respuesta % de inhibición.

μ = Media general.

Extracto $_i$ = Efecto del extracto hidroalcohólico de *N. ponderosus*.

Concentración $_j$ = Efecto del j-ésimo tratamiento (Control positivo, control negativo, 0.25, 0.42, 0.5, 1, 1.7, 2, 3.4 mg/mL).

(Extracto*Concentración) ij = Interacción entre el extracto y concentración.

(Extracto*Nematodo) ik = Interacción entre el extracto y el nematodo (EHNP, *H. contortus*)

(Extracto* Concentración * Nematodo) ijk = Interacción entre el extracto, la concentración y el nematodo.

Error = Error modelo

7.7 Evaluación de la actividad del extracto hidroalcohólico del hongo *N. ponderosus* en jerbos infectados con el nematodo *H. contortus*.

Se realizó la evaluación de la actividad del EHNP en jerbos infectados con el nematodo de ovinos *H. contortus* (L₃) sin vaina; esto con el objetivo de poder evaluar el potencial del hongo en animales vivos.

7.7.1 Desparasitación

Cada jerbo se desparasitó con un antihelmíntico comercial (fenbendazol) 20 mg/mL durante 3 días (Figura 26). Se les administró agua y alimento comercial (*ad libitum*). El alimento comercial estaba elaborado con base en una mezcla de granos diversos; además de un producto comercial en una presentación de cereal comprimido. Se mantuvieron en un cuarto aislado a temperatura ambiente (25°C).



Figura 26.- Desparasitación. (a) Desparasitación de jerbos con un antihelmítico comercial, vía oral, (b) Antihelmítico comercial (fenbendazol) 20 mg/mL por 3 días. Fuente: Propiedad de la autora del presente estudio

5.7.2 Inmunosupresión de jerbos (*Meriones unguiculatus*) e infección artificial con larvas sin vaina de *Haemonchus contortus*

Los jerbos se inmunosuprimieron con dexametazona a una dosis de 100 μ L a una concentración al 1%, vía intramuscular durante tres días con el objetivo de permitir un mejor establecimiento de la infección con larvas L₃ sin vaina de *H. contortus* (Figura 27). La infección se realizó con 10,000 larvas sin vaina de *H. contortus*, vía oral/jerbo (De Jesús-Gabino *et al.*, 2010).

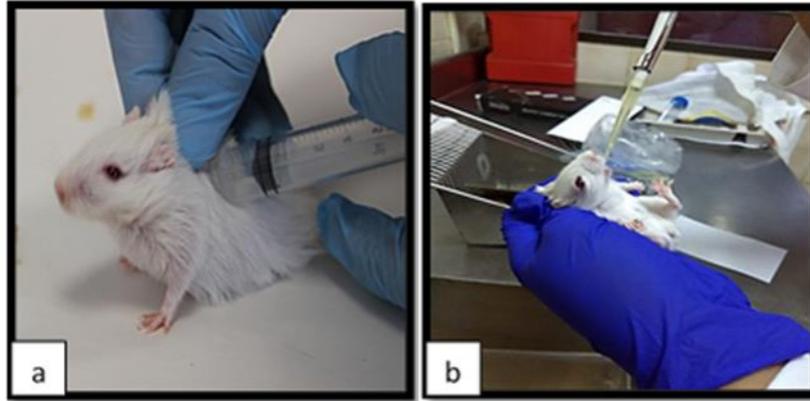


Figura 27.- Inmunosupresión. (a) Inmunosupresión vía intramuscular en jerbos (b) Infección artificial con larvas (L₃) de *Haemonchus contortus* vía oral. Fuente: Propiedad de la autora del presente estudio.

7.7.3 Diseño experimental

El diseño experimental se conformó aleatoriamente de cuatro grupos de jerbos hembras y machos. Los grupos quedarón conformados de seis animales cada uno y se designarón como: serie 1, 2, 3 y 4 (Figura 28), esto se hizo con el EHNP de siete y 14 días. Los animales de la serie 1 (testigo negativo) agua destilada, la serie 2 (testigo positivo) se les administró un antihelmíntico comercial. A los grupos 3 y 4 se les administró el EHNP a una dosis baja y un alta (Figura 29).



Figura 28.- Organización de grupos de jerbos. Fuente: Propiedad de la autora del presente estudio.



Figura 29.- Dosis del extracto hidroalcohólico del hongo *Neolentinus ponderosus* lista para la administración vía oral en jerbos. Fuente: propiedad de la autora del presente estudio.

7.7.4 Sacrificio de jerbos, búsqueda y cuantificación de estdíos endoparásitos de *Haemonchus contortus* en estómago y mucosa

El sacrificio de jerbos se realizó 5 días post-tratamiento, por el método de sobredosis de anestesia. La necropsia de cada jerbo se realizó colocando el animal en una charola de plástico separando las extremidades anteriores y posteriores, para tener una mejor manipulación, se retiró el pelo de la parte abdominal. El estómago fue extraído de la

cavidad abdominal colocándolo en una placa de Petri, se separaron y se lavaron con la solución buffer salina (PBS, pH 7.4) (Figura 30). Todos los nematodos fueron colectados, cuantificados y preservados en la solución de formol al 10%. Se obtuvo el promedio de nematodos por cada grupo y se estimó el porcentaje de reducción de la población de nematodos respecto al grupo testigo utilizando la siguiente fórmula (De Jesús-Gabino *et al.*, 2010).

$$\% \text{ de mortalidad} = \frac{\bar{X} \text{ testigo positivo} - \bar{X} \text{ tratado}}{\bar{X} \text{ testigo}} \times 100$$

La mucosa estomacal fue sometida al proceso de digestión artificial para permitir la extracción de larvas del parásito embebidas en la mucosa gástrica, para tal efecto se preparó una solución con 1.75 mL de ácido clorhídrico, 250 mL de agua destilada y 1.5 mg de pepsina. Finalmente, el estómago de cada jerbo se revisó en un microscopio óptico para cuantificar las larvas extraídas de la mucosa estomacal (De Jesús-Gabino *et al.*, 2010).

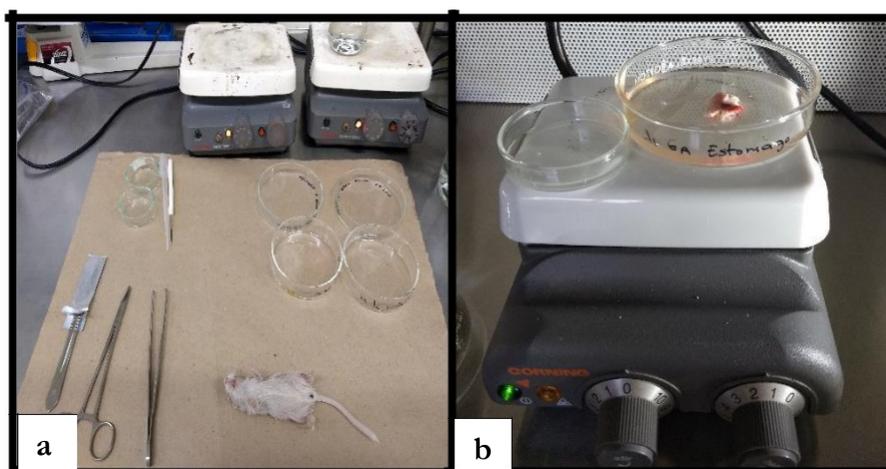


Figura 30.- Sacrificios. (a) Material para realizar el sacrificio de jerbos (b) Separación de estómago y contenido estomacal del jerbo. Fuente: Propiedad de la autora del presente estudio.

7.8 Análisis estadístico

Los datos se transformaron a $\sqrt{x+0.5}$ y se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba post hoc de comparación de medias por los métodos de Duncan y Tukey, con un nivel de significancia de 0.05. Los datos fueron analizados usando el Software Statistical Analysis System (SAS) (SAS Institute, 1998).

8. RESULTADOS

8.1 Evaluación *in vitro* del EHNP contra larvas (L3) *Haemonchus contortus* a siete, 14, 21 días de incubación

En la tabla 6 se muestran los siguientes resultados: a siete días con sonicación en PD se obtuvo 14.81% de mortalidad a una concentración de 0.62 mg/mL, así mismo, en la evaluación del MS se obtuvo una mortalidad de 9.13% a una concentración de 20 mg/mL. También en la tabla 6 se muestran los resultados de siete días sin sonicación en medio MS se obtuvo una mortalidad del 24.32% a una concentración de 12.5 mg/mL, en medio PD la mortalidad fue del 97.02% a una concentración de 3.4 mg/mL; a 14 días sin sonicación en medio PD se obtuvo una mortalidad de 44.38% a una concentración de 0.03 mg/mL y a 21 días sin sonicación en medio PD se obtuvo una mortalidad de 37.5% a una concentración de 0.12 mg/mL.

Tabla 6.- Evaluación *in vitro* del extracto hidroalcohólico de *Neolentinus ponderosus* contra larvas de *H. contortus* a siete, 14, 21 días de inoculación.

Siete días con sonicación			
Tratamiento	Concentración mg/mL	$\bar{x} \pm DE$	Mortalidad% 72 h
Agua destilada	0	0 ± 0	0.00 _d
Ivermectina	5	100 ± 0	100.00 _a
PD	0.62	15 ± 4.7	14.81 _b
	1.25	7.1 ± 1.7	7.07 _c
	2.5	11 ± 7	10.79 _b
	5	11 ± 3.7	11.29 _b
	10	7.1 ± 2.4	7.05 _c
	20	12 ± 0.6	12.44 _b
Agua destilada	0	0 ± 0	0.00 _h
Ivermectina	5	100 ± 0	100 _a
MS	0.62	5.3 ± 1.7	5.27 _g
	1.25	3.5 ± 1.7	3.46 _f
	2.5	7.8 ± 2.2	7.76 _d
	5	8.4 ± 2.1	8.40 _c
	10	6.2 ± 4.5	6.24 _e
	20	9.1 ± 5.4	9.13 _b
Sin sonicación siete días			
Agua destilada	0	0 ± 0	0.00 _h
Ivermectina	5	100 ± 0	100.00 _a
	0.62	22 ± 1.9	22.49 _b
PD	1.25	22 ± 11	21.82 _b
	2.5	13 ± 6.4	13.43 _f
	5	19 ± 2.6	18.78 _f
	10	7.5 ± 0.6	7.49 _g
	20	11 ± 2.6	11.35 _f
	0.006	0 ± 0	0.00 _h
	0.21	0 ± 0	0.00 _h
	0.25	15 ± 1	14.91 _f
	0.42	17 ± 2.9	17.42 _f
	0.50	67 ± 22	66.69 _e
	1.70	80 ± 4	79.96 _d

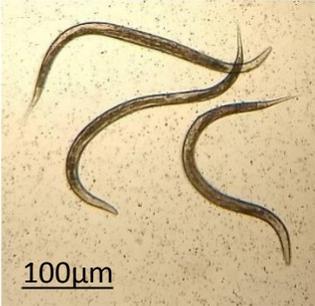
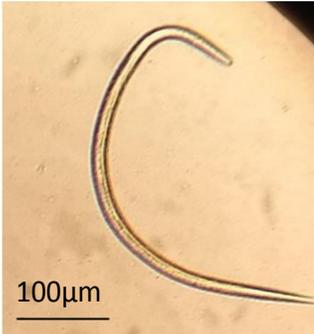
	1.00	85±4	85.09 _c
	2.00	93±1	93.04 _b
	3.40	97±1	97.02 _b
Agua destilada	0	0 ± 0	0.00 _f
Ivermectina	5	100±0	100 _a
MS	0.62	5.1 ± 0.9	5.05 _c
	1.25	3.7±1	3.70 _e
	2.5	4.4 ± 2.3	4.43 _d
	5	3.4 ± 3.3	3.38 _e
	10	8.3 ± 2.3	8.34 _b
	20	9±1.5	8.98 _b
	3.12	13±3	3.19 _f
	6.25	23±12	12.47 _c
	12.5	48±24	24.32 _b
	25	84±7	7.00 _e
	50	21±8	8.04 _d
100	12±2	2.40 _g	
14 días sin sonicación			
Agua destilada	0	0±0	0.00 _f
Ivermectina	5	100±0	100 _a
PD	0.24	16 ± 5.4	16.40 _e
	0.12	24±6	24.56 _d
	0.06	38 ± 6	38.26 _c
	0.03	44 ± 6.6	44.38 _b
21 días sin sonicación			
Agua destilada	0	0 ± 0	0.00 _d
Ivermectina	5	100±0	100 _a
PD	0.24	20 ± 4.7	19.7 _c
	0.12	28 ± 4.9	37.5 _b
	0.06	20 ± 7.2	19.6 _c
	0.03	32 ± 3.6	32.1 _b

\bar{x} = Promedio, DE= Desviación estándar, n=4, $p \leq 0.05$. Letras iguales indican que los valores no difieren estadísticamente, según prueba de Tukey.

El mejor resultado que se obtuvo fue de 97% de mortalidad y se representa en el Tabla 7 donde podemos observar las larvas de *H. contortus* con tres tratamientos diferentes donde en el tratamiento uno que funge como testigo con agua destilada se observan las larvas en

perfecto estado, sin daño alguno, en el tratamiento con Ivermectina con una concentración de 5 mg/mL se observa una larva muerta donde la característica principal es la posición de la larva y ya no se ven tan definidas las células intestinales; en el tratamiento con el extracto hidroalcohólico del hongo *N. ponderosus* de siete días se obtuvo la mayor mortalidad a una concentración de 3.4 mg/mL se observa una larva muerta donde la posición, la carencia de movimiento y la falta de células intestinales nos indican la muerte de las larvas.

Tabla 7.- Aspecto de las larvas L₃ de *Haemonchus contortus* expuestas al extracto hidroalcohólico del hongo *Neolentinus ponderosus* a siete días de inoculación y sus controles.

<i>In vitro</i>	
Tratamiento mg/mL	Larvas (L ₃)
Testigo (H ₂ O)	
Testigo (Ivermectina 5 mg/mL)	
Extracto hidroalcohólico del hongo comestible <i>Neolentinus ponderosus</i> (3.4 mg/mL)	

En la tabla 8 los datos del extracto de micelio de siete días fueron analizados mediante un diseño completamente al azar en el programa estadístico SAS (V9), posteriormente se determinó la concentración letal media mediante un análisis Probit CL₅₀ (0.55 mg/mL) y

CL₉₀(2.06 mg/mL) (Tabla 8); con base a los resultados del Probit se determinaron las concentraciones *in vitro* correspondientes a las (CL₅₀ y CL₉₀).

Tabla 8.- Concentración letal media mediante un análisis PROBIT.

Probabilidad	Dosis	95% Límites fiduciales	
0.35	0.37080	0.33889	0.40281
0.40	0.42486	0.39063	0.45939
0.45	0.48466	0.44786	0.52207
0.50	0.55173	0.51193	0.59261
0.55	0.62808	0.58459	0.67334
0.60	0.71648	0.66826	0.76748
0.65	0.82095	0.7664	0.87973
0.70	0.94757	0.88423	1.01724
0.75	1.10621	1.03022	1.19165
0.80	1.31432	1.21933	1.42361
0.85	1.60679	1.48131	1.75475
0.90	2.06895	1.88836	2.28773
0.91	2.19922	2.00186	2.43975
0.92	2.35005	2.13269	2.61662
0.93	2.52786	2.28619	2.82625

8.2 Evaluación *in vivo* del EHNP contra larvas (L₃) *Haemonchus contortus* en jerbos

Los resultados del estudio *in vivo* de siete días muestran que el EHNP causó una mortalidad larvaria de 2.38 y 49.56% a una concentración de 0.040 y 0.081 mg/mL p.v, respectivamente (Tabla 9). Así mismo, en la tabla 10 se muestra el aspecto de las larvas L₃ de *H. contortus* en confrontación con el EHNP a una dosis de 0.081 mg/mL y 0.040 mg/mL p.v), de igual manera la confrontación con H₂O y fenbendazol a una concentración de 20 mg/mL p.v. Los resultados del estudio *in vivo* de 14 días muestran que el EHNP causó una mortalidad larvaria de 89.66 y 25.88% a una concentración de 0.031 y 0.062mg/mL, respectivamente (Tabla 9). También, en la tabla 11 se muestra el aspecto de las larvas L₃ de *H. contortus* en

confrontación con el EHNP a una dosis de 0.031 mg/mL p.v y 0.062 mg/mL p.v), de igual manera la confrontación con H₂O y fenbendazol a una concentración de 20 mg/mL p.v.

Tabla 9.- Evaluación del efecto *in vivo* del extracto hidroalcohólico de *Neolentinus ponderosus* a siete y 14 días de inoculación.

Siete días			
Tratamiento mg/ mL pv	Larvas recuperadas	$\bar{x} \pm DE$	Mortalidad (%)
Agua destilada	418	69.66 ± 8.95	0.00 _d
Fenbendazol	26	3.71 ± 3.72	94.66 _a
20mg/mL EHNP	408	68 ± 28.60	2.38 _c
0.040 mg/mL EHNP	211	35.16 ± 17.93	49.56 _b
0.081 mg/mL			
14 Días			
Agua destilada	387	32 ± 7.09	0.00 _d
Fenbendazol	24	2 ± 4.03	93.48 _a
20 mg/mL EHNP	40	3 ± 4.45	89.66 _b
0.031mg/mL EHNP	288	24 ± 26.88	25.88 _c
0.062 mg/mL			

\bar{x} = Promedio, DE= Desviación estándar, n=4, p≤0.05. Letras iguales indican que los valores no difieren estadísticamente, según prueba de Tukey.

En la Tabla 10 se muestra el aspecto de las larvas (L₃) de *H. contortus* recuperadas de los jerbos con diferentes tratamientos. El tratamiento con agua destilada se muestra una larva

de *H. contortus* viva, sin ningún daño, donde se aprecia la conformación intestinal correcta, en el tratamiento con Fenbendazol a una dosis de 20 mg/mL p.v se muestra una larva de *H. contortus* muerta donde la posición de la larva ya no es normal (en el caso de las larvas (L₃) de *H. contortus* cuando se encuentran completamente estiradas o solo un poco curvadas es una característica que indica muerte) y se observa una pérdida de distribución de las células intestinales, en el tratamiento con EHNP de siete días de inoculación a una dosis de 0.081 mg/mL p.v (dosis alta) se observaron las larvas (L₃) de *H. contortus* muertas, por otro lado, en el tratamiento del EHNP a siete días dosis de 0.040 mg/mL p.v (dosis baja) se observaron muy pocas larvas muertas.

Tabla 10.- Aspecto de las larvas (L₃) recuperadas de *Haemonchus contortus* expuestas al extracto hidroalcohólico del hongo *Neolentinus ponderosus* (EHNP) de siete días y sus controles.

Siete días	
Tratamiento mg/mL p.v	Larvas recuperadas
Testigo (H ₂ O)	
Testigo (Fenbendazol 20 mg/mL)	
Dosis alta del extracto hidroalcohólico del hongo <i>Neolentinus ponderosus</i> (0.081 mg/mL)	
Dosis baja del extracto hidroalcohólico del hongo <i>Neolentinus ponderosus</i> (0.040 mg/mL)	

En la Tabla 11, se muestra el aspecto de las larvas (L₃) de *H. contortus* recuperadas de los jerbos con diferentes tratamientos, los tratamientos con EHNP de 14 días de crecimiento. El tratamiento con agua destilada se muestra una larva de *H. contortus viva*, sin ningún daño, donde se aprecia la conformación intestinal correcta. En el tratamiento con Fenbendazol a una dosis de 20 mg/mL p.v se muestra una larva de *H. contortus* muerta donde la posición de la larva ya no es normal y se observa una lisis de las células intestinales. En el tratamiento con EHNP a una dosis de 0.062 mg/mL p.v (dosis alta) se observaron las larvas (L₃) de *H. contortus* con aparente daño ya que la posición de la larva al estar enroscada nos indica que hay un daño directo a la larva. En el tratamiento con EHNP a una dosis de 0.031 mg/mL p.v (dosis baja) se observaron las larvas (L₃) de *H. contortus* muertas donde sus células digestivas se encuentran en lisis, la posición y la falta de movilidad (en el caso de las larvas (L₃) de *H. contortus* cuando se encuentran completamente estiradas o solo un poco curvadas es una característica que indica muerte). En el presente estudio no se identificó el o los metabolitos responsables de dicha actividad; sin embargo, en un siguiente trabajo se pretende llevar a cabo.

Tabla 11 .- Aspecto de las larvas (L3) recuperadas de *Haemonchus contortus* expuestas al extracto hidroalcohólico de *Neolentinus ponderosus* de 14 días de incubación y sus controles.

14 días	
Tratamiento mg/mL p.v	Larvas recuperadas
Testigo (H ₂ O)	
Testigo (Fenbendazol 20 mg/mL)	
Dosis alta del extracto hidroalcohólico del hongo <i>Neolentinus ponderosus</i> (0.062 mg/mL)	
Dosis baja del extracto hidroalcohólico del hongo <i>Neolentinus ponderosus</i> (0.031 mg/mL)	

9. DISCUSIÓN

La producción ovina ha tenido un auge importante en los últimos años y se ha consolidado como una actividad económicamente importante, pero existen factores que limitan su potencial (FAO, 2010). La resistencia antihelmíntica ha sido un problema constante para la ovicultura y un desafío para el profesional veterinario, hasta ahora el principal método de control de los NGI consiste en la utilización de antihelmínticos químicos (e.g. lactonas macrocíclicas, benzimidazoles e imidazotiazoles), pero el uso indiscriminado a nivel mundial y nacional ha provocado el aumento de ésta resistencia (Zapata-Garza, 2017).

Entre estos factores se encuentran las parasitosis causadas por nematodos gastrointestinales (NGI), que son considerados como uno de los principales grupos de parásitos que causan pérdidas económicas.

Esto ha generado la búsqueda de métodos alternativos que ayuden a combatir las parasitosis (Villarreal-Guevara, 2018). Una de estas alternativas potenciales son los hongos comestibles que poseen propiedades nutricionales, medicinales y son reconocidos como nutracéuticos además por su uso como antiparasitarios (Aguilar-Marcelino *et al.*, 2017); Así como lo ha notificado Aguilar-Marcelino (2017b) donde uso extractos de hongos comestibles con actividad nematocida, bajo condiciones *in vitro*. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue evaluar *in vitro* e *in vivo* el EHNP contra *H. contortus*.

En el presente estudio se obtuvo una actividad *in vitro* del EHNP del 97% contra el nematodo *H. contortus*, en una extensa revisión de literatura no se encontraron estudios realizados con el hongo *N. ponderosus* y la actividad nematocida. Sin embargo, existen hongos comestibles que comparten ciertas características, como los macromicetos que degradan celulosa, esto ha motivado a realizar diversos estudios evaluando extractos de hongos comestibles con actividad nematocida, en una notificación realizado por Rodríguez (2014), evaluó extractos de cuatro cepas diferentes de *P. djamor* contra larvas sin vaina de *H. contortus* y notificó una mortalidad de $\geq 93\%$ a una concentración de 175 mg/mL a las 48 y 72 h postconfrontación (Rodríguez, 2014).

Estos resultados son similares a los obtenidos en el presente estudio, cabe mencionar que la cantidad de extracto utilizado fue menor y podrían sugerir o indicar que existen una

mayor cantidad de metabolitos secundarios del hongo *N. ponderosus*. Por otro lado, en un estudio realizado por Huicochea-Medina (2018) evaluó la fracción “R1” del extracto hidroalcohólico del micelio del hongo *P. ostreatus* (ECS-1123) contra las larvas de *H. contortus*, la tasa de mortalidad fue de 100% a 5 mg/mL. En comparación con la presente investigación, la concentración utilizada fue mayor y se obtuvieron resultados similares.

Por otro lado, en un estudio realizado por Pineda-Alegría (2017) se evaluó el efecto del extracto acuoso de cuerpos fructíferos de *Lentinula edodes* sobre las larvas (L₃) de *H. contortus* y notificó una mortalidad del 69% a una concentración de 100 mg/mL. Esto indica que requirió más extracto para obtener un efecto letal, a diferencia de este estudio. En el mismo año, Cuevas *et al.* (2018) notificó que el hongo *Pleurotus* spp. posee compuestos bioactivos contra *H. contortus*, obteniendo una mortalidad del 45% a 20 mg/mL a las 72 h post confrontación (Cuevas-Padilla *et al.*, 2018).

En otro estudio realizado por Arizmendi *et al.* (2014) notificó que el hongo *P. ostreatus* posee compuestos bioactivos con propiedades nematocidas en el cuerpo fructífero como en el micelio (Arizmendi, 2014). Así mismo, Da Silva (2017) realizó estudios *in vitro* donde usó hongos nematófagos contra larvas de *H. contortus* donde obtuvieron una reducción del 65% hasta 85%, comprobando que éstos hongos también tienen un potencial nematocida. Existen estudios como el de Rodríguez (2014) donde evaluó el extracto hidroalcohólico de la planta *Acacia cochliacantha* y observó que cuando está en contacto el extracto las larvas presentan un daño a su estructura externa, las mismas características que se presentan en el presente estudio con el extracto hidroalcohólico de *N. ponderosus*. De manera general se puede observar algunas diferencias entre estos estudios como son la dosis que en algunas ocasiones fue mayor, pero en otra fue menor y de igual manera hubo resultados positivos donde los extractos de hongos demuestran que tienen potencial nematocida (Rodríguez, 2014).

Por otro lado, en el experimento *in vivo*, se decidió utilizar jerbos (*M. unguiculatus*), ya que es un modelo fácil de usar (Huicochea-Medina, 2018). Para la estandarización del experimento se tomaron en cuenta diversos trabajos similares con jerbos infectados artificialmente con *H. contortus* (Villarreal-Guevara, 2018; Huicochea-Medina, 2018). Como resultado, en éste estudio, se obtuvo una mortalidad del 49% a una concentración de 81 µg/mL. De manera similar, en otro estudio se evaluó el extracto etanólico de *Artemisia absinthium* en jerbos infectados con L3 de *H. contortus* e informó una reducción de la carga parasitaria del 34% a una concentración de 200 mg/kg como una dosis única (Squires, 2011); en otro estudio donde se evaluó el aceite de naranja (*Citrus sinensis*) a una concentración de 600 mg/kg pc y 1,200 mg/kg p.v. contra larvas de *H. contortus* en jerbos, el tratamiento se administró durante cinco días y notificaron un porcentaje de reducción de larvas del 62 y 87%, respectivamente (Squires, 2010).

Huicochea-Medina (2018) evaluó el “R2” fracción obtenida del hongo comestible *P. djamor* ECS-127 en jerbos infectados artificialmente con larvas L3 de *H. contortus*; donde demostró un porcentaje de reducción de la carga parasitaria del 92.56% a una concentración de 8.02 mg/mL (Huicochea-Medina, 2018). Con base al anterior estudio se estableció la aplicación de los tratamientos (Rodríguez-Gómez, 2016). En nuestro estudio se observa que la reducción de larvas es menor en comparación con los estudios descritos anteriormente; sin embargo, la dosis utilizada fue al menos 100 veces menor. Por lo tanto, es posible que, al aumentar la dosis, se pueda obtener una mayor reducción de las larvas; la diferencia del extracto obtenido de 7 días y el de 14 días es que al aumentar la concentración disminuye el porcentaje de mortalidad esto se debe probablemente entre más tiempo de incubación tenga el hongo éste produzca menor cantidad de moléculas responsables de la actividad nematocida lo cual hace que el porcentaje de mortalidad sea menor. Cabe mencionar que es importante a futuro realizar la evaluación del extracto hidroalcohólico del hongo *N. ponderosus* a diferentes concentraciones, para evaluar los efectos bioquímicos o toxicidad que produce en el organismo del jervo, así como su biodisponibilidad; ya que antes de llegar a la circulación sanguínea o al sitio de acción, el compuesto pasa por diversos órganos o barreras del sistema lo que puede provocar pérdidas de la dosis inicial, pero así mismo, también puede potencializar el efecto del extracto hidroalcohólico del hongo *N.*

ponderosus mostrando un resultado diferente en el modelo del jerbo que en los resultados de las pruebas *in vitro*.

10. CONCLUSIONES

- El extracto hidroalcohólico de la biomasa de *N. ponderosus* causó un 97% de mortalidad a las 72 h a una concentración de 3.4 mg/mL contra las larvas infectantes (L3) sin vaina de *H. contortus*.
- El presente estudio muestra evidencia de la actividad nematocida que posee el hongo *N. ponderosus* contra las larvas (L3) de *H. contortus* en una CL₅₀ (0.55 mg/mL) y una CL₉₀ (2 mg/mL). Con base al estudio realizado *in vivo* con los jerbos se muestra evidencia de la actividad antihelmíntica que posee el hongo *N. ponderosus* contra larvas (L3) de *H. contortus* en jerbos (*Meriones unguiculatus*) con una mortalidad del 89.66% con una dosis del 0.031 mg/mL pv.
-

11. PERSPECTIVAS

- Evaluar del extracto hidroalcohólico del hongo *N. ponderosus* a diferentes concentraciones para valorar los efectos bioquímicos o toxicidad que produce en el organismo del jerbo.
- Evaluar la biodisponibilidad ya que antes de llegar a la circulación sanguínea o al sitio de acción, el compuesto pasa por diversos órganos o barreras del sistema lo que puede provocar pérdidas de la dosis inicial, pero así mismo también puede potencializar el efecto del extracto hidroalcohólico del hongo *N. ponderosus* mostrando un resultado diferente en el modelo del jerbo que en los resultados de las pruebas *in vitro*.

- Realizar el estudio químico biodirigido a partir del micelio del extracto hidroalcohólico del hongo comestible *N. ponderosus* para identificar y cuantificar las moléculas bioactivas responsables de la actividad antihelmíntica mediante técnicas cromatográficas (columna abierta, TLC, HPLC) y espectroscópicas (resonancia magnética nuclear C₁₃ y H₁).
- Es importante que se realicen estudios sobre el mecanismo de acción de los hongos hacia los nematodos y realizar microscopia electrónica de barrido (MEB) para observar los daños que ocasiona el uso del extracto hidroalcohólico del hongo *N. ponderosus* sobre las larvas infectantes de *H. contortus*.
- Usar diferentes niveles de dosis y días de aplicación, así como probarlo en ovinos.
- Finalmente determinar las aplicaciones biotecnológicas del hongo comestible *N. ponderosus* en animales de producción.

12. LITERATURA CITADA

- Acharya, K., S. Khatua, S. R. 2017. Quality assessment and antioxidant study of *Pleurotus djamor* (Rumph. Ex Fr.) Boedijn. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 7(6): 105-110.
- Acharya, S., Saha, A. K. 2011. Antimicrobial activity of *Pleurotus djamor*. *Journal of Mycopathological Research* 49(2): 329-332.
- Aguilar-Marcelino, L. 2012. Microorganismos con uso potencial contra el nematodo de ovinos *Haemonchus contortus*. Tesis, Doctorado. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, Edo. De México. 7-20p.
- Aguilar-Marcelino, L., Mendoza de Gives, P., Torres-Hernández, G., López-Arellano M.E., Becerril-Pérez, C.M., Orihuela-Trujillo, A., Torres-Acosta, J. F., Olmedo-Juárez, A. 2017 (a). Consumption of nutritional pellets with *Duddingtonia flagrans* fungal

chlamydospores reduces infective nematode larvae of *Haemonchus contortus* in faeces of Saint Croix lambs. *Journal of Helminthology* 91:665-671.

Aguilar-Marcelino, L., Sánchez, V.J.E., Mendoza de Gives, P. 2017(b). Uso biotecnológico de productos obtenidos a partir de *Pleurotus* spp. En el control de nematodos parásitos de importancia pecuaria. En: La biología, el cultivo y las propiedades nutricionales y medicinales de las setas *Pleurotus* spp. José E. Sánchez y Daniel J. Royse, Editores. El Colegio de la Frontera Sur. San Cristóbal de las casas, Chiapas, México. pp. 297-309.

[Alba-Hurtado, F., Romero-Escobedo, E., Muñoz-Guzmán, M. A., Torres-Hernández, G., Becerril-Pérez, C. M.](#) 2010. Comparison of parasitological and productive traits of criollo lambs native to the central lambs experimentally infected with *Haemonchus contortus*. *Veterinary Parasitology* 172(3-4): 277-82.

Alunda-José M^a., Cuquerella-Montserrat., Mohamed-Fawzy, Elshaima. 2013. Primera vacuna recombinante frente a la hemoncosis ovina. Universidad Complutense de Madrid. 3 p.

André-Genier, H., De Freitas S. E. F., Queiroz J. H., De Gouveia A. D. S., Araújo J. V., Braga, F. R., Rebouças-Pinheiro, I., Kasuya, M. C. M. 2015. Activity of the fungus *Pleurotus ostreatus* and of its proteases on *Panagrellus* sp. Larvae. *African Journal of Biotechnology* 14(17):1496-1503.

Anwarul-H. M. D., Kumar, S. A., Kumar, P. R., Shakila, K. S., Anwar, U. I. I. M. D. 2015. Screening for Antiparasitic Activity of Crude Extracts of *Pleurotus highking*, a Bangladeshi Edible Mushroom 18(1): 38-41.

Areskog, M., Sollenberg, S., Engström, A., Samson, Himmelstjerna, G., Von, Höglund, J. 2014. A controlled study on gastrointestinal nematodes from two cattle farms showing field evidence of ivermectin resistance. *Parasitology & Vectors*. pp. 7, 13.

Arizmendi, J. M., Aguilar, M. L., Mendoza, D. G. P., Sánchez, V. J. E., López, A. M. E., Gonzáles, C. M., Zamilpa, A. A. 2014. *In vitro* activity of *Pleurotus ostreatus* compounds against *Haemonchus contortus* infective larva (L3). 13th International Congress of Parasitology, Mexico.

- Arsenopoulos, K., Minoudi, S., Symeonidou, I., Triantafyllidis, A, Katsafadou, A. I., Lianou D. T., Fthenakis, G. C., Papadopoulos, E. 2020. Frequency of resistance to benzimidazoles of *Haemonchus contortus* helminths from dairy sheep, goats, cattle and buffaloes. *Pathogens* 3:9(5):347.
- Arteaga, C. J. D. 2006. Situación de la ovinocultura y sus perspectivas. Memorias primera semana nacional de ovinocultura. Hidalgo, México. pp. 610-623.
- Barba-Chávez, J. M., López-Cruz, I. J. 2017. Guía práctica para el cultivo de setas. Universidad Autónoma Metropolitana, unidad Iztapalapa. pp. 21-23.
- Bastida- Zaragoza, A., Rodríguez-Zalazar, E., Carranza-Valladares, B., Herrera-Corredor., Rivero- Pérez, A. 2018. *Cassia fistula* como tratamiento alternativo contra nematodos gastrointestinales de ovino. México. *Revista Abanico Veterinario* 9: 1-10.
- Basto-Estrella, G.S., Rodríguez-Vivas, R.I., Delfín-González, H., Navarro-Alberto, J.A., Favila, M.A., Reyes-Novelo, E. 2016. Dung removal by dung beetles (*Coleoptera: Scarabaeidae*) and macrocyclic lactone use on cattle ranches of Yucatán, México. *Revista. Biología del Trópico* 64(3):945-954.
- Berrum-Tavira, U. 2017. Actividad ovicida *in vitro* de dos extractos acuosos de semilla y fruto de *Pithecellobium dulce* contra *Haemonchus contortus*. Universidad Autónoma del Estado de México. Tesis de Licenciatura para obtener el título de Ingeniero Agrónomo Zootecnista. pp. 2-7.
- Besier, R. B., Kahn, L. P., Sargison, N. D., Van, Wyk, J. A. 2016. The pathophysiology, ecology and epidemiology of *Haemonchus contortus* infection in small ruminants. *Parasitology* 93:95-143.
- Biesalski, H. K. 2001. Nutraceuticals: the link between nutrition and medicine. In: Kramer K, Hoppe PP and Packer L (eds) *Nutraceuticals in health and disease prevention*. Marcel Decker. New York. 1st edition. 318 p.
- Brizuela-M, A. G. L., Pérez, L., Mansur, M. 1998. "Basidiomicetos: nueva fuente de metabolitos secundarios." *Iberoamerican Mycology* 15: 69-74.

- Bordes, L. Dumont, N., Lespine, A., Souil, E., Sutra, J. F., Prévot, F., Grisez, C., Romanos, L., Dailedouze, A., Jacquiet, P. 2020. First report of multiple resistance to eprinomectin and benzimidazole in *Haemonchus contortus* on a dairy goat farm in France. 76:1-7.
- Bush, A.O., Fernández, J.C., Esch, G.W. & Seed R. 2001. Parasitism. The diversity and ecology of animal parasites. Cambridge, E.U.: Cambridge University Press. 1st edition. pp. 238-253. <http://www.cambridge.org>
- Caamal-Can, Luis. 2017. Comparación de la infestación de nematodos gastrointestinales (NGI) entre ovinos jóvenes y adultos en un sistema de producción secundaria. 18 p.
- Cabardo, D. E., & Portugaliza, H. P. 2017. Anthelmintic activity of *Moringa oleifera* seed aqueous and ethanolic extracts against *Haemonchus contortus* eggs and third stage larvae. International Journal of Veterinary Science and Medicine 5(1): 30-34.
- Cabrera-Nuñez, A., Rojas-Mencio, P., Daniel-Renteria, I., Serrano-Solís, A., López-Ortega, M. 2007. Influencia de la suplementación sobre la ganancia de peso y calidad de la canal en borregos Dorper/Katahdin. UDO Agrícola 7(1):245-251.
- Carbonero, E. R., Gracher, A. H. P., Smiderle, F.R., Rosado, G.L., Sasaki, G. L., Gorin, P. A. J., Iacomini, M. 2006. A beta-glucan from the fruit bodies of edible mushrooms *Pleurotus eryngii* and *Pleurotus ostreatoroseus*. Carbohydrate Polymers 66(2): 252-257.
- Carbonero, E.R., Gracher, A. H. P., Rosa, M. C. C., Torri, G., Sasaki, G. L., Gorin, P.A.J., Iacomini, M. 2008. Unusual partially 3-O-methylated alpha-galactan from mushrooms of the genus *Pleurotus*. Phytochemistry 69(1): 252-257.
- Castañeda-Rodríguez, G. 2018. Evaluación del potencial nutracéutico y actividad antihelmíntica *in vitro* de extractos de hojas de especies forrajeras contra huevos y larvas de *Haemonchus contortus*. Tesis doctoral. Mérida. Yucatán. México. pp. 1-87.
- Castells, D., 2004. Epidemiología y control de nematodos gastrointestinales de ovinos en el Uruguay. INIA. Serie de Actividades de difusión. 359: 3- 11.
- Castells, D., Smith, D., Newlands, G., Solari, M. A., Gayo, V., Nari, A. 2013. Evaluación de una vacuna basada en antígenos ocultos de *Haemonchus contortus* en Uruguay. XLI Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú, Uruguay.

- Castillas, J., Mendoza, P., López, M., Liébano, E. 2008. Evaluation of Multinutritional Pellets Containing *Duddingtonia flagans* Clamydospore for the control of ovine Haemonchosis. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1141: 161-163.
- Cintra-M.C. R., Teixeira, V.N., Nascimento. L. V., Sotomaior, C. S. 2016. Lack of efficacy of monepantel against *Trichostrongylus colubriformis* in sheep in Brazil. *Veterinary Parasitology* 216: 4-6.
- Cabardo, D. E., & Portugaliza, H. P. 2017. Anthelmintic activity of *Moringa oleifera* seed aqueous and ethanolic extracts against *Haemonchus contortus* eggs and third stage larvae. *International Journal of Veterinary Science and Medicine* 5(1): 30-34.
- Colegio de Postgraduados. 2016. Institución de enseñanza e investigación de Ciencias Agropecuarias, reglamento para el uso y cuidado de animales destinados a la investigación en el Colegio de Posgraduados. pp. 1-18.
- Comans-Pérez, R., Aguilar-Marcelino, L., Mendoza De Gives, P., Sánchez, J. E., López-Arellano, M. E. 2014. *In vitro* lethal capability of ten strains of edible mushrooms against *Haemonchus contortus* (Nematoda) infective larvae. 8th international conference on mushroom biology and mushrooms products. New Delhi, India. pp. 557-562.
- Cuevas-Padilla, E. J., Aguilar-Marcelino, L., Sánchez, J. E. 2018. A *Pleurotus* spp. Hydroalcoholic fraction possess a potent *in vitro* ovicidal activity against the sheep parasitic nematode *Haemonchus contortus*. First edition. *Updates on Tropical Mushrooms*. pp. 194-211.
- Chagas, A.C., Domingues, L.F., Gaínza, Y. A., Barioni, Júnior, W., Esteves, S. N., Niciura, S. C. 2016. Target selected treatment with levamisole to control the development of anthelmintic resistance in a sheep flock. *Parasitology. Research* 115(3): 1131-1139.
- Charlier, J., Van der Voort, M., Hogerveen, H., Vercruyssen, J. 2012. Para Calc®- A novel tool to evaluate the economic importance of worm infection on the dairy farm. *Veterinary Parasitology* 184: 204- 211.
- Chandrasekharaiah, M., Thulasi, A., Sampath, K.T. 2011. Microbial protein synthesis, nitrogen capture efficiency and nutrient utilization in sheep fed on finger millet straw

- (*Eleusine coracana*) based diet with different rumen degradable nitrogen levels. Journal of the Science of Food and Agriculture 91(8):1505-1510.
- Claerebout, E., Wilde, N., Mael, E.V., Casaert, S., Velde, F.V., Roeber, F., Veloz, P. V., Levecke, B., Geldhof, P. 2020. Anthelmintic resistance and common worm control practices in sheep farms in Flanders, Belgium. 20:1-6.
- Das, A. R., Saha, A. K., Joshi, S. R., Das, P. 2017. Wild edible macrofungi consumed by ethnic tribes of Tripura in Northeast India with special reference to antibacterial activity of *Pleurotus djamor* (Rumph. Ex Fr.) Boedijn. International Food Research Journal 24(2): 834-838.
- De Barba, F. F. M., Silveira, M. L. L., Piloni, B. U., Furlan, S.A., Pinho, M. S. L. 2011. Influence of *Pleurotus djamor* bioactive substances on the survival time of mice inoculated with Sarcoma 180. International Journal of Pharmacy 7: 478-484.
- De Jesús-Gabino, A. F., Mendoza de Gives, P., Salinas-Sánchez, D. O., López-Arellano, M. E., Liébano-Hernández, E., Hernández-Velázquez, V. M., Valladares-Cisneros, G. 2010. Anthelmintic effects of *Prosopis laevigata* n-hexanic extract against *Haemonchus contortus* in artificially infected gerbils (*Meriones unguiculatus*). Journal of Helminthology 84(1): 71-5.
- De Lucas T. J. 2006. Arbiza AS. Situación y perspectivas, la producción de carne ovina en México. Bayvet. 21: 22-28.
- De Oliveira L. M., Bevilaqua, C. M., Macedo, I. T., De Morais, S. M., Machado, L. K., Campello, C. C., De Aquino-Mesquita, M. 2011. Effects of *Myracrodruon urundeuva* extracts on egg hatching and larval exsheathment of *Haemonchus contortus*. Parasitology Research 109(3): 893-8.
- Degenkolb, T., Vilcinskis. A. 2016. Metabolites from nematophagous fungi and nematicidal natural products from fungi as alternatives for biological control. Part II: metabolites from nematophagous basidiomycetes and non-nematophagous fungi. Applied microbiology and Biotechnology 100(9): 3799-812.

- Díaz-Rivera, P., Torres- Hernández, G., Osorio-Arce, M., Pérez-Hernández, P., Pulido-Albores, A. R., Becerril-Pérez, C. M., Herrera-Haro, J. G. 2000. Resistencia a parásitos gastrointestinales en ovinos Florida, Pelibuey y sus cruzas en el Trópico Mexicano. *Agrociencia* 34:13-20.
- Díaz, N. I., Aguilar, M. L., González, C. M., Sánchez, G. A., 2017. Evaluación *in vitro* e *in vivo* de la mezcla E1de *Pleurotus djamour* contra *Haemonchus contortus* (L4) utilizando al jerbo (*Meriones unguiculatus*) como modelo experimental de estudio. Tesis para obtener el grado de Licenciatura en Ingeniero en Biotecnología. pp.1-60.
- Dobson, R. J., Hosking B., Jacobson, C., Cotter, J, Besier, R. 2012. Preserving new anthelmintics: a simple method for estimating faecal egg count reduction test (FECRT) confidence limits when efficacy and/or nematode aggregation is high. *Veterinary Parasitology* 186:79-92.
- Dzhafarov, M. K. H., Vasilevich, F., Dovgalev, A. S., Imamkuliev, K. D., Pautova, E.A. 2016. Anthelmintic substances: main classes, problems, trends in development and prospects. *Medicine. Parasitology* 2: 47-53.
- Eduardo da Silva, M., Mercado M. A., Millán-Orozco, J., Mendoza D. G. P., Liébano, H. E., Ribeiro, B. F., Victor, D. A. J. 2017. Predatory activity of *Butlerius* nematodes and nematophagous fungi against *Haemonchus contortus* infective larvae. *Brazil Journal Veterinary Parasitology. Jaboticabal* 26(1): 92-95.
- Elgorashi, E. E., Maekawa, N., Satoh, H. 2008. *In vitro* anti-inflammatory activity of selected Japanese higher Basidiomycetes mushrooms. *International Journal of Medicinal Mushrooms* 10(1): 49-53.
- Emery. D .L., Hunt, W. P., Le, L. F. J. 2016. *Haemonchus contortus*: ¿the then and now, and where to from here? *International Journal for Parasitology* 46: 755-769.
- Encalada-Mena, L., Tuyub-Solis, H., Ramírez-Vargas, G., Mendoza de Gives, P., Aguilar-Marcelino, L., López-Arellano, M.E. 2014. Phenotypic and genotypic characterization of *Haemonchus* spp. And other gastrointestinal nematodes resistant to benzimidazole in

- infected calves from the tropical regions of Campeche State, Mexico. *Veterinary Parasitology* 205(1-2): 246-54.
- Euzéby, J., Sánchez, A. C., Del Cacho, M. E., Quílez, C. J. & López, B. F. Trads. 2001. *Los parásitos de las carnes: epidemiología, fisiopatología, incidencias zoonóticas*. Francia: Acribia. 448 p.
- FAO. 2017. Potential integration of small ruminants with tree-cropping systems in Asia and the South Pacific. *FAO Animal Productions and Health Paper*. Asia and the South Pacific.
- Fiel-C. A., Steffan, P. E. 1994. Epidemiología de los nematodos gastrointestinales en la Pampa Húmeda, en: Nari, A. & Fiel, C. A. *Enfermedades parasitarias de importancia económica en bovinos. Bases 42 epidemiológicas para su prevención y control*. Hemisferio Sur 67-94. 131-153.
- Fiel, C., Steffan, P., Bernat, G., Riva, E. 2016. The control of *Trichostrongyle* infections in grazing cattle of Argentina in a context of multiple anthelmintic resistances. *Journal Veterinary Medicine*. pp. 3, 1–6.
- Finney, D. 1971. *Probit Analysis*. Cambriage University Press. Cambridge. UK. 333 p.
- Florez-Acevedo, S., Sarmiento, N., Martínez, G. S. 2010. Patrones de alimentación, sueño y actividad reproductiva en Jerbos de Mongolia (*Meriones unguiculatus*) Patterns of feeding, sleep and reproductive behavior in Mongolian Gerbils (*Meriones unguiculatus*), *Fundación Universitaria Konrad Lorenz, Colombia*. 17: 2. pp. 201-208.
- Flores, L. O. I. 2015. Caracterización molecular de basidiomycetesa partir de aislamientos y fructificaciones colectados en la reserva biológica San Francisco RBSF. Loja, Ecuador. *Universidad Técnica particular de Loja* .pp. 1-50.
- Fondo Institucional de Fomento Regional para el Desarrollo Científico, Tecnológico y de Innovación. 2016. (CONACYT, FORDECYT).
- Fonseca-Salamanca, F., Martínez, G. M. M., Martínez, F. A. R. 2003. Nematocidal activity of nitazoxanide in laboratory models. *Parasitology Research* 91: 321-324.

- Gaitán-Hernández, R. 2000. Obtención de cepas de *Neolentinus suffrutescens* por entrecruzamiento, su caracterización *in vitro* y producción de cuerpos fructíferos a nivel planta piloto. Magazine. Micology 17:20-24.
- Gaitán-Hernández, R. 2005. Evaluación *in vitro* del hongo comestible *Pleurotus eryngii*: Efecto de diferentes suplementos orgánicos en el crecimiento micelial y producción de cuerpos fructíferos. Revista Mexicana Micología 21:77-84.
- Gaitán-Hernández, R., Esqueda, M., Gutiérrez, A., Sánchez, A., Beltrán, G. M., Mata, G. 2006. Bioconversion of agrowastes by *Lentinula edodes*: the high potential of viticulture residues. Applied Microbiology and Biotechnology 71: 432-439.
- Galindo-Barboza, A. J., Torres, A. F.J., Cámara, S. R., Sandoval, C. C.A., Aguilar, C. A.J., Ojeda, R. N.F., Reyes, R. R. 2011. Persistence of the efficacy of copper oxide wire particles against *Haemonchus contortus* in sheep. Veterinary Parasitology. España, España 207 p.
- Ganeshpurkar, A., Bhadoriya, S. S., Pardhi, P., Rai, G. 2012. Investigation of anthelmintic potential of oyster mushroom *Pleurotus Florida*. Indian Journal Pharmacology 44(4):539-540.
- Gebresilassie, L., Tadele, A. B. 2015. Prevalence of ovine haemonchosis in Wukro, Ethiopia. Journal of Parasitology. Research pp. 1-6. Doi: 10.1155/2015/635703.
- González-Cortazar, M., Zamilpa, A., López-Arellano, M. E., Aguilar-Marcelino, L., Reyes-Guerrero, D. E., Olazarán-Jenkins, S., Mendoza-de-Gives, P. 2018. *Lysiloma acapulcensis* leaves contain anthelmintic metabolites that reduce the gastrointestinal nematode egg population in sheep faeces. *Comparative Clinical Pathology* 27(1): 189-197.
- González, E. 2013. Evaluación *in vitro* de hongos nematófagos sobre larvas L₃ de nematodos gastrointestinales de bovinos. Tesis de maestría en ciencias biológicas. Pontificia Universidad Javeriana. pp. 10-12.
- González-Garduño, R., Cordova, P. C., Torres, H. G., Mendoza de Gives, P., Arece, G. J. 2011. Prevalencia de parásitos gastrointestinales en ovinos sacrificados en un rastro de Tabasco, México. Veterinaria México 42(2): 125-135.

- Grando, T. H., De Sá, M. F., Baldissera, M. D., Oliveira, C. B., de Souza, M. E., Raffin, R. P., Monteiro, S. G. 2016. *In vitro* activity of essential oils of free and nanostructured *Melaleuca alternifolia* and of terpinen-4-ol on eggs and larvae of *Haemonchus contortus*. Journal of Helminthology 90(03): 377-382.
- Gronvold, J., Henriksen, S. A., Larsen, M., Nansen, P., Wolstrup, J. 1996. Biological control. Aspects of biological control with special reference to arthropods, protozoans and helminths of domesticated animals. Veterinary. Parasitol. pp. 64:47-64.
- Guzmán, M. N., Zúñiga, G.G., Santa fé, O., Torres, Angulo, A. 2009. Actividad antioxidante y estudio químico del hongo *Pleurotus djamor* recolectado en Córdoba. Facultad de Ciencias Agropecuarias 7(2): 63-60.
- Hawksworth, D. L. 1991. Fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance and conservation. Mycological Research 95:641-655.
- Hawksworth, D., *et al.* 1995. Ainsworth & Bisby's, dictionary of the fungi. 8th ed. CAB International. United Kingdom. pp. 310, 616.
- Hawksworth, D. L. 2001. The magnitude of fungal diversity: 1.5 million species estimate revisited. Mycological Research 105:1422-1432.
- Heleno, S. A., Stojkovic, D., Barros, L., Glamoclija, J., Sokovic, M., Martins, A., Joao, M. R., Ferreira, I. C. 2013. A comparative study of chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of *Morchella esculenta*. Portugal and Serbia 51: 236-243.
- Hernández-Marín, J. A., Valencia-Posadas, M., Ruíz-Nieto, J. E., Mireles-Arriaga, A. I., Cortez-Romero, C., Gallegos-Sánchez, J. 2017. Contribución de la ovinocultura al sector pecuario en México. Agroproductividad. Colegio de Postgraduados. 10(3): 87-93.
- Hinney, B., Schoiswohl, J., Melville, L., Ameen, V.J., Wille-Piazzai, W., Bauer, K., Joachim A., Krücken, J., Skuce, P. J., Krametter-Frötscher, R. 2020. High frequency of benzimidazole resistance alleles in trichostrongyloids from Austrian sheep flocks in an alpine transhumance management system. Biomedical Center Veterinary Research 16(1):132.

- Ho, J.C. K., Sze, S. C. W., Shen, W. Z., Liu, W. K. 2004. Mitogenic activity of edible mushroom lectins. *Bioquímica et Biophysica Acta* 1671(1-3): 9-17.
- Hoste, H. A., Jacinto., Aguilar-Caballero, J. F. J., Torres-Acosta., Cámara-Sarmiento, C. Sandoval-Castro, A. 2008. Inmunidad contra los nematodos gastrointestinales: La historia caprina. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 74 p.
- Hoste, H., Torres-Acosta, J.F.J., Quijada, J, Chan-Pérez, I., Dakheel, M. M, Kommuru, D. S., Mueller-Harvey, I, Terrill, T. H. 2016. Interactions between nutrition and infections with *Haemonchus contortus* and related gastrointestinal nematodes in small ruminants. *Advances in Parasitology* 93: 239-351.
- Huicochea-Medina, M. 2018. “Actividad de la fracción C y R2 de los hongos *Pleurotus ostreatus* y *P. dejamour* contra *Haemonchus contortus* utilizando jerbos (*Meriones unguiculatus*) como modelo de estudio”. Tesis de Maestría. Cuernavaca, Morelos, México. pp. 1-72.
- Jin, M. 2003^a. Activation of selective transcription factors and cytokines by soluble extract from *Lentinus Lepideus*. *Exp. Biology Medical* 228: 749-758.
- Jim, M. 2003. Enhancement of repopulation and hematopoiesis of bone marrow cell in irradiated mice by oral administration of PG101, a soluble extract from *Lentinus lepidus*. *Biology Medical* 228: 759-766.
- Johnstone, C., Guerrero, J., Home, S.R., Eisenberg, A., Hobday, M., Farias, L. O. 1998. *Parásitos y enfermedades parasitarias de los animales domésticos*. Universidad de Pennsylvania.
- Kassai, T. 2002. *Helmintología Veterinaria*. Imprenta: Zaragoza, España. Acribia. 258p.
- Khaund, P., Joshi, S. 2015. Functional nutraceutical profiling of wild edible and medicinal mushrooms consumed by ethnic tribes in India. *Journal Medicine. Mushrooms* 17(2): 187-197.
- Kidukuli, A. W., Z. H. Mbwambo, H. Malebo, C. A. Mgina, M. J. Mihale. 2010. *In vivo* antiviral activity, protease inhibition and brine shrimp lethality of selected Tanzanian wild edible mushrooms. *Journal Applied of Bioscience* 31: 1887-1894.
- Kirsch, L, De Macedo A, Teixeira M. 2016. Production of mycelial biomass by the Amazonian edible mushroom *Pleurotus albidus*. *Brazil. Microbiology* 47(3): 658-664.

- Knox, D. 2011. Proteases in blood-feeding nematodes and their potencial as vaccine candidates. *Advances in Experimental Medicine Biology* 712: 155-76.
- Küppers, H. 1996. *Atlas de los colores*. España. Editorial Blume. 1614 p.
- Kwok, O. C. H., Plattner, R., Weisleder, D., Wicklow, D.T. 1992. A Nematicidal toxin from *Pleurotus ostreatus* NRRL 3526. *Journal of Chemical Ecology*. 18(2): 127-136.
- Larsen, M. 2000. Prospects for controlling animal parasitic nematodes by predacious micro fungi. *Parasitology* 120:121–131.
- Leonowicz, A., Matuszewska, A., Luterek J., Ziegenhagen, D., Wojtae, Wasilewska M, Cho N., Hofrichter, M, Rogalski, J. 1999. Biodegradation of lignin by white rot fungi, *Fungal Genetics and Biology* 27: 175-185.
- Lechner, B., Wright, J. 2002. First record of *Neolentinus schaefferi* in the Americas. *Mycotaxon* 82:281-287.
- Lechner, B., Wright, J., Albertó, E. 2004. The genus *Pleurotus* in Argentina. *Mycologia*. 96(4): 845–858.
- Li, G., Dong, H., Mo, J. Y., Zhang, K. Q. 2001. Nematicidal activity of nematophagous *Pleurotus* and allied fungi to *Panagrellus redivivus*. *China Journal Biology Control* 17:26-29.
- Li, G. H, Wang, X. B., Zheng, L. J, Li, L., Huang, R, Zhang, K. Q .2007. Nematicidal metabolites from the fungus *Pleurotus ferulae* Lenzi. *Ann Microbiology*. 57: 527-529.
- Li, H. G., Zhang, K. 2014. Nematode-toxic and their nematicidal metabolites. In: Zhang, K., Hyde, K.D. (eds) *Nematode-Trapping Fungi: Fungal Diversity Research*. Mushroom Foundation. Yunnan, China. pp. 313-375.
- Liébano, H. E. 2010. Cultivo e identificación larvaria de nematodos del tracto gastroentérico. Bautista GCR y López AME editores. *Diagnóstico de enfermedades parasitarias selectas de rumiantes*. Primera edición. INIFAP. pp. 43-85.
- Liébano-Hernández, E., López-Arellano, M. E., Mendoza de Gives, P., Aguilar-Marcelino, L. 2011. *Manual de Diagnóstico para la identificación de larvas de nematodos gastrointestinales en rumiantes*. Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Parasitología Veterinaria. Manual. No. 2. pp. 1-48.

- Liébano-H. E., Vázquez, P. V. & Fernández, R. M. 1998. Sobrevivencia de larvas infectantes de *Haemonchus contortus* en un clima subcálido en México. *Veterinaria*. México. pp. 29(3).
- Li, H. G., Zhang, K. 2014. Nematode-toxic and their nematocidal metabolites. In: Zhang, K., Hyde, K.D. (eds) *Nematode-Trapping Fungi: Fungal Diversity Research*. Mushroom Foundation. Yunnan, China pp. 313-375.
- Lodge, D. J., Ammirat, J. F., O'Dell, T. E., Mueller G. M., Huhndorf, S. M., Wang, C., Stokland, J., Schmit J. P., Ryvarde, L., Leacock, P., Mata, M., Umaña, L., Wu Q., Czederpiltz, D. L. 2004. Collecting and describing macrofungi. In *Biodiversity of fungi: Inventory and Monitoring Methods*. New York, Academy Press. pp. 123-168.
- López-Collado, J., Cruz-Rosales, M., Vilaboa-Arroniza, J., Martínez, I., González-Hernández, H. 2017. Contribution of dung beetles to cattle productivity in the tropics: A stochastic-dynamic modeling approach. *Agricultural Systems*. pp. 155: 78-87.
- Lull, C., Wichers, J. H., Savelkoul, F. H. J. 2005. Anti-inflammatory and immunomodulating properties of fungal metabolites. *Journal Hindawi Publishing* 2:63-80.
- Lumaret, J. P., Errouissi, F. 2002. Use of anthelmintics in herbivores and evaluation of risks for the non target fauna of pastures. *Veterinary Research* 33, 547-562.
- Lumaret, J. P., Errouissi, F., Floate, K, Römbke, J, Wardhaugh, K. 2012. A Review on the Toxicity and Non-Target Effects of macrocyclic lactones in terrestrial and aquatic environments. *Current Pharmaceutical Biotechnology* 13(6):1004-1060.
- Mahler-Julia, L. 2006. Descripción de las características del cultivo *in vitro* y producción de inóculo de cuatro cepas nativas de *Neolentinus* spp. Tesis, Licenciatura. *Revista Ciencia, Tecnología y Salud*. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Guatemala. 2(2): 95-104.
- Mandaluniz, N., Arranz, J., Ruiz, R. 2015. A comparison of two grazing regimes during lactation for improving the sustainability of Latxa dairy sheep system. *Grassland and forages in high output dairy farming systems Proceedings of the 18th Symposium of the European Grassland Federation Wageningen, the Netherlands*. pp. 253-254.

- Martínez-Carrera, D., Leben, R., Morales, P., Sobal & A, M. Larqué-Saavedra. 1991. Historia del cultivo comercial de los hongos comestibles en México. Ciencia y Desarrollo (CONACYT) 96: 33-43.
- Martínez-Carrera, D., Sobal, M., Morales, P., Martínez, W., Martínez, M., Mayett, Y. 2004 Edible mushrooms: nutritional, medicinal properties, and their contribution to Mexican food: Shiitake. Graduate College (COLPOS) Puebla Campus. México. pp 1-45.
- Martínez-Carrera, D., Larqué-Saavedra, A., Tovar-Palacio, A., Torres, N., Meneses, M. E., Sobal-Cruz, M., Morales-Almora, P., Bonilla-Quintero, M., Escudero-Uribe, H., Tello-Salgado, I, Bernabé-González, T., Martínez-Sánchez, W., Mayett, Y. 2016. Contribución de los hongos comestibles, funcionales y medicinales a la construcción de un paradigma sobre la producción, la dieta, la salud y la cultura en el sistema agroalimentario de México. In: Martínez-Carrera, D., J. Ramírez Juárez, Ciencia, tecnología, innovación en el sistema agroalimentario de México. COLPOS-AMCCONACyT-UPAEP-IMINAP. Texcoco. pp. 581-640.
- Martínez-González, S., Aguirre-Ortega, J., Gómez -Danés, A., Ruíz-Félix, M., Lemus-Flores, C., Macías-Coronel, H., Moreno-Flores, L. A., Salgado-Moreno, S., Ramírez-Lozano, M. H. 2010. Tecnologías para mejorar la producción ovina en México. Revista Fuente. Universidad Autónoma de Nayarit, México. pp.1-11.
- Martínez, M. I., Cruz, R. M. 2009. The use of agricultura and livestock chemical products in the cattle ranching area of Xico, central Veracruz México, and their possible environmental impact. Acta Zoology Mexico 25: 637-681.
- Martínez, O. M. C. 2010. Mecanismo de acción de las plantas ricas en taninos sobre la población adulta de gastrointestinales de pequeños rumiantes. Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias Agropecuarias. Francia: Université de Toulouse. pp. 2-90.
- Martínez-Santiago, J. L. 2014. Determinación de *Haemonchus Contortus* en muestras de materia fecal de ovinos del municipio de Acambay, Estado de México. Tesis de licenciatura para tener el grado de Médico Veterinario Zootecnista. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. pp. 6-28.

- Mata, G., Salmenes, D., Pérez-Merlo, R. 2016. Hydrolytic enzyme activities in shiitake mushroom (*Lentinula edodes*) strains cultivated on coffee pulp. *Revista Argentina de Microbiología* 48(3): 191-195.
- Mata-Milagro. 1999. Macro hongos de Costa Rica. Inst. nacional de Biodiversidad, Santo Domingo de Hereda. pp. 120-129. Disponible en: <http://www.jstor.org/stable/42597276>
- Mavrot, F., Hertzberg, H., Torgerson., P. 2015. Effect of gastro-intestinal nematode infection on sheep performance: a systematic review and meta-analysis. *Parasites & Vectors* 8: 557.
- Mayoral-Peña, Z., Piña-Vázquez, D. M., Gómez-Sánchez, M., Salazar Olivo, L. A., Aguilar, Tipacamú, G., Arellano, C. F. 2017. El nematodo *Caenorhabditis elegans* como modelo para evaluar el potencial antihelmíntico de extractos de plantas. *Revista Mexicana de ciencias pecuarias*. 8 p.
- Mendoza de Gives P. 2012. Carnivorous Fungi: the cruelest executioners of nematodes in the soil. *Mushrooms Journal* pp. 30-36.
- Milne-Edwards A. 1984. Observations sur quelques mammifères du Nord de la Chine. *Ann Sci nat.* 1867, 7:375-377. Pair formation in the Mongolian gerbil. *Animal Behaviour* 32(2):528-535.
- Milton, R., R. Dulay, Miranda, L. A., Malasaga, J. S., Kalaw, S. P., Reyes, R. G., Hou, C. T. 2017. Antioxidant and antibacterial activities of acetonitrile and hexane extracts of *Lentinus tigrinus* and *Pleurotus djamour*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnonology* 9: 141-144.
- Moctezuma-Pérez, I., Martínez-García, M., Campos-Contreras, J. E., Rivera-Yáñez, N., Juárez-Contreras, A., Hernández-Portilla, L. B., Flores-Ortiz, C. M., Hernández-Hernández, A. B., Martínez- Elizalde, K. S., Rodríguez-Marlene, G., Rivera-Yáñez, C. R., Rodríguez-Monroy, M. A., Canales-Martínez, M. M. 2017. Propiedades nutraceuticas de *Morchella vulgaris* (Pers.) Boud. *Interciencia, Asociación Interciencia.* Caracas, Venezuela 42(7): 423-429.

- Moreno-Fuentes A. *et al.* 1996. Kuté-mo'kó-a: Un hongo comestible de los indios Rarámuri de México. *Revista Mexicana Micología* 12:31-39.
- Norma Oficial Mexicana. 1999. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio (NOM-062-ZOO-1999). En: Diario Oficial de la Federación, México.
- Orihuela-A., Vázquez-Prats, V. 2009. Estrategias conductuales en la relación parásito hospedero. *Técnica Pecuaria en México* 46: 259-285.
- Ortiz-Berrocal, F., Muñoz-Espejo, M. L. 2013. Cultivo de *Pleurotus ostreatus* sobre paja de cereales. Córdoba. Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural, Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera. pp.1-18.
- Páez-León, S. 2018. Actividad nematocida de extractos de sustrato agotado de *Pleurotus ostreatus* y *Moringa oleifera* contra nematodos de importancia agropecuaria". Tesis para obtener el grado de Ingeniero en Biotecnología. Universidad Politécnica del Estado de Morelos. pp. 69-72.
- Palizi, P., Goltapeh, E., Safaie, N. 2009. Potential of oyster mushrooms for the biocontrol on sugar beet nematode (*Heterodera schachtii*). *Journal of plant protection research* 49: 27-34.
- Parasitosis gastrointestinales de ovinos y bovinos. Situación actual y avances. 2013. *Revista INIYA*. 12 p.
- Partida de la Peña, J. A., Braña-Varela, D., Jiménez-Severiano, H., Ríos-Rincón, F.G., Buendía-Rodríguez, G. 2013. Producción de carne ovina. Libro Técnico No. 5. 1ª. Edición. Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología y Mejoramiento Animal. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Ajuchitlán, Colón, Querétaro. México. pp. 21-23.
- Pegler, D. 1983. The genus *Lentinus*: A world monograph. 1^{ra} ed. Kew bulletin additional series X. London. 1738 p.
- Pérez-Cogollo, L. C., Rodríguez-Vivas, R. I., Reyes- Novelo, E., Delfín- González, H., Muñoz-Rodríguez, D. 2016. Survival and reproduction of *Onthophagus landolti* (Coleoptera: Scarabaeidae) exposed to ivermectin residues in cattle dung. 12: 17-42.

- Pineda-Alegría, J. A., Sánchez-Vázquez, J. E., González-Cortazar, M., Zamilpa, A., López-Arellano, M. E., Cuevas-Padilla, E. J., Aguilar-Marcelino, L. 2017. The edible mushroom *Pleurotus djamor* produces metabolites with lethal activity against the parasitic nematode *Haemonchus contortus*. *Journal of Medicinal Food* 20(12):1184-1192.
- Porter- Robert., Kaplan, J. 2006. *The Merck Veterinary Manual*. Medicina Interna. Digestive. *Haemonchus*, *Ostertagia*, and *Trichostrongylus* spp. 10 th edition. 115 p.
- Quiroz, R. H. 1984. *Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos*. México: Limusa. Primera edición. 1-4 (4,17): 876.
- Ramírez-Robledo, G. E., Osorio-Ornelas, Z. I., Rojas-Sánchez, L. 2017. Bitácora del jerbo (*Meriones unguiculatus*). Actividades en el Instituto Nacional de Salud Pública (INSP). Morelos. México. pp. 1-14.
- Ginns, J. 1985. A reappraisal of agaric genera associated with brown rots of woods. *Trans. Mycology Society Japan* 26:349-381.
- Rivera, O., Albarracin, W., & Lares, M. 2017. Componentes bioactivos del shiitake (*Lentinula edodes*) y su impacto en la salud. *Alimentos funcionales aproximación a una nueva alimentación* 36(2): 67-71.
- Rodrigues, A., T., Lopes L. M., Kolos, G., M., Tonini Mesquita, J., Do Nascimento, M. A., Dos Santo, A. L., Sartorelli, P., Carvalho Pimenta, D., Tempone, A. G. 2017. Ergosterol isolated from the basidiomycete *Pleurotus salmoneostramineus* affects *Trypanosoma cruzi* plasma membrane and mitochondria. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases* 23: 30.
- Rodríguez, S. 2014. Actividad de extractos de cuatro cepas de *Pleurotus djamor* contra larvas infectantes del nematodo parásito de ovinos *Haemonchus contortus*. Tesis de licenciatura. Tapachula, Chiapas, México. pp 14-21.
- Rodríguez-Vivas, R. I., Grisi L., Pérez de León, A. A., Silva-Villela, H., Torres-Acosta J. F., Fragoso-Sánchez, H., Romero-Salas, D., Rosario-Cruz, R., Saldierna, F., García-Carrasco, D. 2017. Potencial economic impact assessment for cattle parasites in México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias* 8(1): 61-74.

- Rodríguez-Vivas, R.I., Cob, G.L. 2005. Técnicas Diagnósticas en Parasitología Veterinaria. Universidad Autónoma de Yucatán. Yucatán. México. Segunda edición. ISBN: 970-698-045-8.
- Rosa, L. H., Machado, K. M. G., Rabello, A.L.T., E.M. Souza-Fagundes, E. M., Correa-Oliveira, R., Rosa, C. A., Zani, C. L. 2009. Cytotoxic, immunosuppressive, trypanocidal and antileishmanial activities of Basidiomycota fungi present in Atlantic Rainforest in Brazil. *Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology* 95(3): 227-237.
- Rosado, F. R., Carbonero, E. R., Kimmelmeier, C., Tischer, C. A. Gorin, P. A. J., Iacomini, M. 2002. A partially 3-O-methylated (1-4)-linked α -D-galactan and α -D-mannan from *Pleurotus ostreatorroseus* Singer. *FEMS Microbiology Letters* 212(2): 261-265.
- Rosa, L. H, Gomes-Machado, K., Jacob, C. C., Capelari, M., Rosa, C. A., Zani, C. L. 2003. Screening of Brazilian basidiomycetes for antimicrobial activity. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 98(7): 967-974.
- Sacket, D., Holmes, P., Abbott, K., Jephcott, S., Barber, M . 2006. Assessing the economic cost of endemic disease on the profitability on the Australian beef cattle and sheep producers. In: Report No. final report, meat and livestock. Sydney, Australia. pp.11-58.
- Sánchez, J. 2006. Prevalencia de nematodos gastrointestinales en el ganado bovino del Ejido de Parotilla municipio de Lázaro Cárdenas Michoacán. Tesis Médico Veterinario zootecnista. Facultad de Medicina Veterinaria Zootecnia, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, México. 45 p.
- Sánchez, V. J. E., Andrade, G. R. H., Coello, M. 2010. Hacia un desarrollo sostenible del sistema de producción consumo de los hongos comestibles y medicinales en Latinoamérica: Avances y Perspectivas en el Siglo XXI. Los hongos comestibles en el sureste de México. Colegio de postgraduados Primera edición. 11:151-168.
- Satou, T, Kaneko, K, Li, W, Koike, K. 2008. The toxin produced by *Pleurotus ostreatus* reduces the head size of nematodes. *Biology. Pharmacy. Bull* 31: 574-576.

- SAS, Institute. 1998. Language guide for personal computer. Edition. SAS Institute Cary. North Carolina. USA. 1028 p.
- Schunemann de Aluja, A., Gutiérrez, G. R., Ibarra, E. I., Lomelí, F. 1993. Declaración mexicana y principios básicos de la experimentación en animales. http://www.inb.unam.mx/bioetica/lecturas/experimenta_mexicana_animales.pdf
- Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo, Pesca y Alimentación (SAGARPA). 2017. Pastoreo rotacional intensivo. 1 p.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Población ganadera ovina 2006-2015. Disponible en: <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/166001/ovino.pdf>. Fecha de consulta: diciembre de 2018.
- Shariat, H. S., Farid, H., Kavianpour, M. 1994. A study of the anthelmintic activity of aqueous extract of *Pleurotus eryngii* on *Symphacia obvelata* and *Hymenolepis nana*. Journal of Sciences Islamic Republic of Iran 5: 19-22.
- Squires, J. M., Foster, J. G., Lindsay, D. S., Caudell, D. L., Zajac, A. M. 2010. Efficacy of an orange oil emulsion as an anthelmintic against *Haemonchus contortus* in gerbils (*Meriones unguiculatus*) and in sheep. Veterinary parasitology 172(1): 95-99.
- SIAP. 2016. Población Ganadera. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesca. <http://www.gob.mx/siap/acciones-y-programas/produccion-pecuaria>
- SIAP. 2017. Población Ganadera. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesca. http://infosiap.siap.gob.mx/repoAvance_siap_gb/pecAvanceEdo.jsp
- SIAP. 2018. Población Ganadera. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesca. http://infosiap.siap.gob.mx/repoAvance_siap_gb/pecResumen.jsp
- Singh, V. K., Patel, Y., & Naraian, R. 2012. Medicinal properties of *Pleurotus* species (Oyster Mushroom): A Review. World Journal of Fungal and Plant Biology 3(1): 1-12.
- Solomon, P. W. 2014. Medicinal Mushroom Science: Current Perspectives, Advances, Evidences and Challenges 37(6): 345-356.

- Squires, J. M., Foster, J. G., Lindsay, D. S., Caudell, D. L., & Zajac, A. M. 2010. Efficacy of an orange oil emulsion as an anthelmintic against *Haemonchus contortus* in gerbils (*Meriones unguiculatus*) and in sheep. *Veterinary parasitology* 172(1): 95-99.
- Stadler, M., Anke, H., Sterner, O. 1993. Linoleic acid-the nematicidal principle of several nematophagous fungi and its productions in trap-forming submerged cultures. *Archives of Microbiology* 169: 401-405.
- Stalpers, J. A. 1978. Identification of wood-inhabiting aphylophorales in pure culture. *Studies in Mycology* 16: 1-248.
- Stadler, M., Anke, H., Sterner O. 1993. Linoleic acid-the nematicidal principle of several nematophagous fungi and its productions in trap-forming submerged cultures. *Archives of Microbiology* 169: 401-405.
- Stamets, P. 2000. *Growing gourmet and medicinal mushrooms*, ten Speed Press. Hong Kong. 544 p.
- Suay, I. 2000. Proyección de basidiomicetos para actividades antimicrobianas. *Pubmed España* 2(78): 39-129.
- Sudha, G., Janardhanan, A., Moorthy, A., Chinnasamy, M., Gunasekaran, S., Thimmaraju, A., Gopalan, J., 2016. Comparative study on the antioxidant activity of methanolic and aqueous extracts from fruiting bodies of an edible mushroom *Pleurotus djamor*. *Food Science and Biotechnology* 25(2): 371-377.
- Suresh, N., J. Ambika, A. Noorjahan, M. Kalaiselvam. 2017. Pink oyster mushroom (*Pleurotus djamor*) and its efficacy against human pathogen. *International Journal of Science Innovations Today* 6(6): 749-757.
- Taylor, M. A., Coop, R. L., Wall, R. L. 2007. *Veterinary Parasitology*. tercera edición. E.U. Blackwell Publishing. pp. 1-200.
- Thorn R. G, Barron G. L .1984. Carnivorous mushrooms. *Sci.* 224:76-78.
- Valencia del Toro, G., Garín-Aguilar, M. E., Téllez-Jiménez, M. A., Durán-Páramo, E. 2008. Actividad antibacteriana de extractos hexánicos de cepas de *Pleurotus djamor*. *Revista Mexicana de Micología* 28: 119-123.

- Verduzco-Mendoza, A., Alfaro-Rodríguez, A., Arch-Tirado, E. 2012. Etología y bioacústica en ratas y cobayos. *Revista Mexicana de Comunicación, Audiología, Otoneurología y Foniatría* 1(1): 7-12.
- Vieira, M. T., Fonseca, L. D., Morais, C. F., De Oliveira V. V., Silva, M. L. F., Morais-Costa, F., Duarte, E. R. 2017. Control of *Haemonchus contortus* in sheep using basidiocarps of *Agaricus blazei* Murril. *Veterinary Research Communications* 41(2): 99-106.
- Villarreal, G. A. 2018. Evaluación *in vitro* e *in vivo* de un ácido graso comercial contra huevos y larvas (L3) de *Haemonchus contortus*. Tesis para obtener el grado de Licenciatura en Médico Veterinario Zootecnista. Morelos. México. pp.1-83.
- Wasser, S. P. 2014. Medicinal Mushrooms Science: Current Perspectives, Advances, Evidences, and Challenges. *Biomedical* 37(6): 345-356.
- Wood, M., Stevens, F. 2007. The fungi of California. USA. http://www.mykoweb.com/CAF/species/Neolentinus_kauffmanii.html
- Wu, X., S., Zheng, L., Cui, H., Wang, T.B. N. 2010. Isolation and characterization of a novel ribonuclease from the pink oyster mushroom *Pleurotus djamor*. *Journal of Genetics and Applied Microbiology* 56(3): 231-239.
- Yang, J. L., Tian, B., Liang, L., Zhang, K. Q. 2007. Extracellular enzymes and the pathogenesis of nematophagous fungi. *Applied. Microbiology Biotechnology* 75(1):21-31.
- Yang, Y. L., Tao, Q. Q., Han, J. J., Bao, L., Liu, H. W. 2017. Avances recientes en compuestos bioactivos de hongos comestibles y medicinales en China. En: Agrawal D., Tsay, H. S., Shyur, L. F., Wu, Y. C., Wang, S. Y. (eds) *Plantas medicinales y hongos: avances recientes en investigación y desarrollo. Plantas medicinales y aromáticas del mundo. Springer, Singapur* 4(9):253-312.
- Yoon, K. N., Alam, N., Shim, M. J., Lee, T. S. 2012. Hypolipidemic and antiatherogenesis effect of culinary-medicinal pink oyster mushroom, *Pleurotus salmoneostramineus* L. Vass. (higher Basidiomycetes) in hypercholesterolemic rats. *International Journal of Medicinal Mushrooms* 14(1): 27-36.

- Zapata-Garza, J. 2017. Evaluación de dos métodos (manejo y químico) para el control de nematodos gastrointestinales en ovinos y caprinos en pastoreo extensivo. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Tesis para obtener el grado de Ingeniero Agrónomo Zootecnista. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. pp. 4-17.
- Zarlenga, D. S, Hoberg, E. P, Tuo, W. 2016. The identification of *Haemonchus* species and diagnosis of *haemonchosis*. *Boock Advances in Parasitology* 93 (5): 145-180.
- Zhang, J., Meng, G., Zhang, C., Lin, N., Xu, N., Liu, M., Cui, F., Jia, L. 2015. The antioxidative effects of acidic, alkalic, and enzymatic-extractable mycelium zinc polysaccharides by *Pleurotus djamor* on liver and kidney of streptozocin-induced diabetic mice. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 15: 440-452.
- Zhang, J., Liu, M., Yang, Y. H., Lin, L., Xu, N., Zhao, H. J., L. Jia, L. 2016. Purification, characterization and hepatoprotective activities of mycelia zinc polysaccharides by *Pleurotus djamor*. *Carbohydrate Polymers* 136: 588-597.
- Zhao, G., Yan, R., Muleke, C.I., Y., Xu, L., Li, X. 2011. Vaccination of goats with DNA vaccines encoding H11 and IL-2 induces partial protection against *Haemonchus contortus* infection. *The Veterinary Journal* 15: 34-29.
- Zuluaga-Jiménez, F., Díaz-Godínez, G., Acosta-Urdapilleta, Ma. de L., Téllez-Téllez, M. 2017. Aislamiento y caracterización *in vitro* del hongo comestible Cojcomon (*Neolentinus ponderosus*). *Aportaciones a las Ciencias Alimentarias*. Tabasco. México. Primera edición. 4: 26-31.

12.1 Dictiotopografía

SIAP. 2018. Población Ganadera. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesca.

http://infosiap.siap.gob.mx/repoAvance_siap_gb/pecAvanceEdo.jsp

http://infosiap.siap.gob.mx/repoAvance_siap_gb/pecResumen.jsp,

Fecha de consulta: 20 de enero 2020.

Wood-M., Stevens, F. 2007. The fungi of California. USA. Mycoweb.

http://www.mykoweb.com/CAF/species/Neolentinus_kauffmanii.html

http://www.mykoweb.com.com/CAF/species/Neolentinus_ponderosus.ht

Fecha de consulta: 20 de enero 2020.

13. ABREVIATURAS

AcOET: Extracto de acetato de etilo

CENID: Centro Nacional de Investigación Diciplinaria

CIB: Centro de Investigaciones Biológicas

COLPOS: Colegio de Post graduados

EHNP: Extracto hidroalcohólico de *Neolentinus ponderosus*

Ej: Ejemplo

FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura

Gr: Gramos

GI: Gastrointestinales

H2O: Agua

HPG: Huevos por gramo

HPLC: Cromatografía líquida

INIFAP: Instituto nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias

INSP: Instituto Nacional de Salud pública

Iv: Ivermectina

Kg: Kilogramo

L3: Larva infectante

CF: Extracto hidroalcohólico de vainas de *Casia fistula*

MDD: Millones de pesos

MEB: Microscopia electrónica de barrido

Mg: Miligramos

mL: Mililitros

N: Número de repeticiones

NGI: Nematodos gastrointestinales

OIE: Organización mundial de sanidad animal

Pa: Pascales

PD: Papa dextrosa

PDA: Agar papa dextrosa

PG: Parasitosis gastrointestinales

RA: Resistencia antihelmíntica

RPM: Revoluciones por minuto

SAGARPA: Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural

SAI: Salud Animal e Inocuidad

SIAP: Servicio de Información Agroalimentaria y Pésquera

TLC: Cromatografía en Capa Fina

UAEM: Universidad Autónoma del Estado de Morelos

14. ANEXOS

14.1 Elaboración de coprocultivo

Este proceso es para poder obtener estadios larvarios.

Se colecta las heces (en una tina de plástico) de un ovino donador (Figura 31) ya previamente infectado con *H. contortus* posteriormente las heces se humedecen con agua corriente y se mezclan de manera homogénea con hule espuma a una proporción 1:1, con el fin de obtener una humedad deseada (80 al 90% aproximadamente) en la cual la mezcla no debe de escurrir agua al hacer presión con la mano ya que posteriormente se van a realizar muñones para la Técnica de Baerman (Figura 32). La temperatura que debe de tener es de 26-28°C. El pH óptimo para el desarrollo larvario debe de ser de 6.5 a 7.5 (Liébano, 2010).

Después de realizar esta mezcla se debe hacer una tapa con papel aluminio dejando una abertura en la parte de en medio que será sustituida por tela de gasa (20 x 20 cm aproximadamente) a manera de evitar la entrada de mosquitos en insectos que puedan contaminar la muestra, pero que permita la ventilación de la muestra (Figura 33). El coprocultivo se mantiene en incubación durante 7 días aproximadamente a temperatura ambiente (25°C aproximadamente) en un lugar seco y con sombra para permitir el desarrollo de los estadios larvarios (L₁, L₂, L₃).



Figura 31.- Colecta de heces en un ovino donador. Fuente: Propiedad de la autora del presente estudio.



Figura 32.- Heces de ovino. (a) Palangana de plástico con heces mezcladas con hule espuma, (b) Consistencia deseada de las heces para el coprocultivo. Fuente: Propiedad de la autora del presente estudio.



Figura 33.- Palangana con tapa de aluminio y su ventilación hecha con tela de gasa.

Fuente: Propiedad de la autora del presente estudio.

14.2 Técnica de Baermann

Ésta técnica se usó para recuperar larvas infectantes (L₃) de *H. contortus*.

Con un embudo de plástico de 14 cm de diámetro aproximadamente se une por la parte inferior del embudo a un tubo de ensaye el cual va a estar conectado por una manguera de PVC (Figura 34) a esto se le conocerá como el embudo de Baermann, una vez que se unieron se pone agua corriente hasta 1/3 partes del embudo y se verifica que no existan filtraciones de agua (Figura 34). Éstos embudos pasado el tiempo de incubación del coprocultivo (siete días) se realiza la homogenización de la mezcla posteriormente tomando lo que cabe en el puño de la mano y realizando bola por bola de heces se pone una por tela de gasa de aproximadamente 20 cm por lado para obtener pequeñas bolsitas (muñones) de heces (Figura 34). Estos muñones se depositan dentro de los embudos de Baermann (Figura 35) y se agrega el agua corriente suficiente para cubrir el 75% aproximadamente del muñon de esta manera se deja reposar durante 24 hrs en un área

especial donde esté protegido de las moscas, hasta obtener un sedimento con larvas infectantes en el fondo del tubo de ensaye (Figura 36).



Figura 34.- Muñones. (a) Elaboración del embudo de Baermann, (b) Elaboración de los muñones (paquetitos de heces). Fuente: Propiedad de la autora del presente estudio.

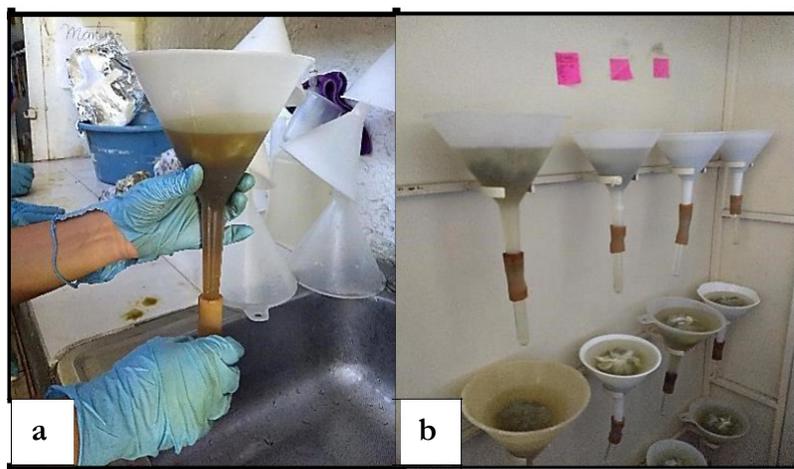


Figura 35.- Técnica de Baermann. (a) Embudo Baermann con muñon y agua, (b) Embudos colocados en un área especial. Fuente: Propiedad de la autora del presente estudio.



Figura 36.- Sedimento de larvas infectantes de *Haemonchus contortus* (L₃). Fuente: Propiedad de la autora del presente estudio.

14.3 Método Mc Master

Éste método se utiliza para poder determinar cuántos huevos por gramo en heces hay en un animal.

Utilizando una bolsa de plástico se toma una muestra de heces (10 g aproximadamente) vía rectal del ovino donado o el que se vaya a evaluar, se debe procurar no contaminar la muestra, cerrándola para su transporte al lugar donde se va a llevar a cabo el análisis de la muestra, se debe de procesar lo más pronto posible. Posteriormente se pesan 2 gr en la balanza granataria y se van a mezclar con 28 mL de solución salina saturada, se colocan en un tubo de 50 mL y se homogeniza la solución hasta deshacer la muestra de heces completamente (Figura 37), posteriormente se le pone encima una tela de gaza para hacer la función de colador y tomar una muestra suficiente (1 mL aproximadamente) para llenar la cámara de Mc Master (Figura 38), para la lectura de la cámara se debe de leer a 40 x en un microscopio LEICA y se cuantifican los huevos que se encuentran dentro de las líneas marcadas en las mismas en los dos compartimientos.

Para el cálculo de los huevos por gramos de heces se utiliza la siguiente formula:

HPG: Suma de huevos de los dos compartimientos x 100/2



Figura 37.- Muestras de heces en solución salina saturada. Fuente: Propiedad de la autora del presente estudio.

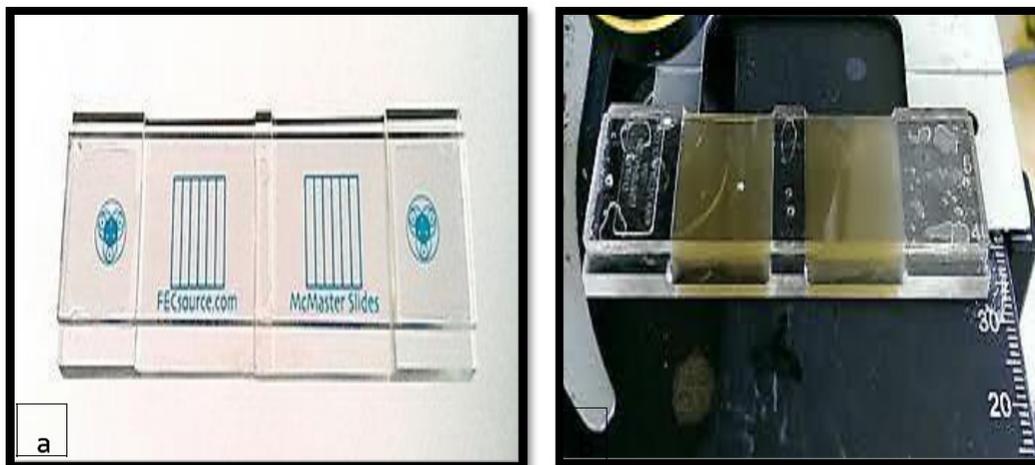


Figura 38.- Cámara Mc Master. (a) Cámara Mc Master vacía, (b) Cámara Mc Master llena de muestra lista para observarse en el microscopio con un objetivo de 40x. Fuente: Propiedad de la autora del presente estudio.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.- Huevo de <i>Haemonchus contortus</i>	8
Figura 2.- Esquema general del pastoreo rotacional.	9
Figura 3. Ciclo biológico de <i>Bacidiomycetes</i>	12
Figura 4.- <i>Pleurotus</i> spp. (a) Crecimiento del hongo <i>Pleurotus</i> spp. en paja de trigo, (b) Cuerpo fructífero de <i>Pleurotus</i> spp	13
Figura 5.- Larva del nematodo de vida libre <i>Panagrellus redivivus</i> inmovilizada y digerida por el micelio del hongo <i>Pleurotus ostreatus</i> (10x).	16
Figura 6.- Cuerpo fructífero del hongo comestible <i>Neolentinus ponderosus</i> .	18
Figura 7.- Seis libertades que propone la organización mundial de sanidad animal para el uso y cuidado de animales destinados a la investigación.	20
Figura 8.- Colonia de jerbos. (a) Jerbos en una jaula. (b) Colonia de jerbos en confinamiento en el Bioterio del Instituto Nacional de salud pública	21
Figura 9.- El jerbo. (a) Jerbo con sus crías, (b) Jerbos después del destete	21
Figura 10.- Larvas (L ₃) de <i>Haemonchus contortus</i> (10x).	23
Figura 11.- Larva infectante de <i>Haemonchus contortus</i> con vaina.	25
Figura 12.- Ciclo biológico del nematodo prásito de ovinos <i>Haemonchus contortus</i>	26
Figura 13.- Metodología seguida para la realización del presente trabajo.	29
Figura 14.- Localización de los diferentes centros e institutos de investigación donde se realizó el presente estudio.	30

Figura 15.- Crecimiento de la biomasa de <i>Neolentinus ponderosus</i> en medio líquido de papa dextrosa.	31
Figura 16.- Ovinos de la raza Pelibuey en jaulas metabólicas en el Centro Nacional de Investigación Disciplinaria (CENID-SAI SALUD ANIMAL e INOCUIDAD, INIFAP).	32
Figura 17.- Limpieza de larvas. (a) Limpieza con sacarosa al 40%, (b) Gradiente de sacarosa para recuperar larvas en proceso de limpieza.	33
Figura 18.- Larvas sicias y limpias. (a) Larvas de <i>Haemonchus contortus</i> sucias, (b) Larvas de <i>Haemonchus contortus</i> limpias.	33
Figura 19.- Larvas con y sin vaina de <i>Haemonchus contortus</i> . (a) Larva L ₃ de <i>Haemonchus contortus</i> con vaina, (b) Larva L ₃ de <i>Haemonchus contortus</i> sin vaina (izquierda), vaina (derecha).	34
Figura 20.- Jerbo. (a) Jerbo (<i>Meriones unguiculatus</i>), (b) Jerbos en jaulas de alambre.	35
Figura 21.- Biomasa.(a) Biomasa de <i>Neolentinus ponderosus</i> , (b) Preparación del extracto hidroalcohólico de <i>Neolentinus ponderosus</i> .	36
Figura 22.- Manejo de la biomasa. (a) Macerado del hongo <i>Neolentinus ponderosus</i> en etanol-agua (70-30), (b) Muestra filtrada del hongo <i>Neolentinus ponderosus</i> lista para rotaevaporar.	37
Figura 23.- Rotaevaporador y liofilizadora. (a) Proceso de rotaevaporación del extracto hidroalcohólico de <i>Neolentinus ponderosus</i> , (b) Liofilización del extracto hidroalcohólico de <i>Neolentinus ponderosus</i> .	37
Figura 24.- Esquema de los bioensayos del extracto hidroalcohólico de <i>Neolentinus ponderosus</i> contra larvas infectantes (L ₃) del nematodo parásito de ovinos <i>Haemonchus contortus</i> .	38

Figura 25.- Bioensayos. (a) Equipo para montar el bioensayo y diferentes concentraciones de material biológico (b) Elaboración de bioensayos del extracto hidroalcohólico del hongo <i>Neolentinus ponderosus</i> .	39
Figura 26.- Desparasitación. (a) Desparasitación de jerbos con un antihelmíntico comercial, vía oral, (b) Antihelmíntico comercial (fenbendazol) 20 mg/mL por 3 días	41
Figura 27.- Inmunosupresión. (a) Inmunosupresión vía intramuscular en jerbos (b) Infección artificial con larvas (L3) de <i>Haemonchus contortus</i> vía oral.	42
Figura 28.- Organización de grupos de jerbos.	43
Figura 29.- Dosis del extracto hidroalcohólico del hongo <i>Neolentinus ponderosus</i> lista para la administración vía oral en jerbos.	43
Figura 30.- Sacrificios. (a) Material para realizar el sacrificio de jerbos (b) Separación de estómago y contenido estomacal del jerbo.	44
Figura 31.- Colecta de heces en un ovino donador.	86
Figura 32.- Heces de ovino. (a) Palangana de plástico con heces mezcladas con hule espuma, (b) Consistencia deseada de las heces para el coprocultivo.	86
Figura 33.- Palangana con tapa de aluminio y su ventilación hecha con tela de gasa.	87
Figura 34.- Muñones. (a) Elaboración del embudo de Baermann, (b) Elaboración de los muñones (paquetitos de heces).	88
Figura 35.- Técnica de Baermann. (a) Embudo Baermann con muñon y agua, (b) Embudos colocados en un área especial	88

Figura 36.- Sedimento de larvas infectantes de *Haemonchus contortus* (L3). 89

Figura 37.- Muestras de heces en solución salina saturada. 90

Figura 38.- Cámara Mc Master. (a) Cámara Mc Master vacía, (b) Cámara Mc 90

Master llena de muestra lista para observarse en el microscopio con un objetivo de 40x.

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 3.- Propiedades medicinales en el hongo comestible <i>Pleurotus dejamour</i> .	13
Tabla 2.- Compuestos aislados a partir del hongo comestible <i>Pleurotus</i> spp. y su eficacia contra diferentes grupos taxonómicos de helmintos (género/especie).	17
Tabla 3. Clasificación del hongo <i>Neolentinus ponderosus</i> .	19
Tabla 4. Clasificación de <i>Meriones unguiculatus</i> .	22
Tabla 5. Clasificación de <i>Haemonchus contortus</i>	24
Tabla 6.- Evaluación <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de <i>Neolentinus ponderosus</i> contra larvas de <i>H. contortus</i> a siete, 14, 21 días de inoculación	46
Tabla 7.- Aspecto de las larvas L ₃ de <i>Haemonchus contortus</i> expuestas al extracto hidroalcohólico del hongo <i>Neolentinus ponderosus</i> a siete días de inoculación y sus controles.	49
Tabla 8.- Concentración letal media mediante un análisis PROBIT.	50
Tabla 9.- Evaluación del efecto <i>in vivo</i> del extracto hidroalcohólico de <i>Neolentinus ponderosus</i> a siete y 14 días de inoculación.	51
Tabla 10.- Aspecto de las larvas (L ₃) recuperadas de <i>Haemonchus contortus</i> expuestas al extracto hidroalcohólico del hongo <i>Neolentinus ponderosus</i> (EHNP) de siete días y sus controles	53
Tabla 11 .- Aspecto de las larvas (L ₃) recuperadas de <i>Haemonchus contortus</i> expuestas al extracto hidroalcohólico de <i>Neolentinus ponderosus</i> de 14 días de inoculación y sus controles.	55
