



Review [Revisión]

**CONTRIBUCIONES CIENTIFICAS DE LA FMVZ-UADY SOBRE
Petiveria alliacea: ALTERNATIVA DE CONTROL DE GARRAPATAS Y
NEMATODOS EN ANIMALES DOMÉSTICOS †**

**[SCIENTIFIC CONTRIBUTIONS FROM FMVZ-UADY ABOUT *Petiveria
alliacea*: CONTROL ALTERNATIVE OF TICKS AND NEMATODES IN
DOMESTIC ANIMALS]**

**G. J. Flota-Burgos, J. A. Rosado-Aguilar*, R. I. Rodríguez-Vivas
and M. Bolio-González**

*Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma de Yucatán.
Carretera Mérida-Xmatkuil Km. 15.5. Apdo. Postal: 4-116 Itziminá, C.P.:97100.
Mérida, Yucatán, México. Email: alberto.rosadoaguilar@gmail.com*

**Corresponding author*

SUMMARY

Background. In tropical and subtropical regions of the world, ticks and nematodes negatively affect the health and welfare of animals, the search for natural alternatives for parasite control is necessary to reduce resistance and dependence to antiparasitics. **Objective.** To present the main findings on the acaricidal and anthelmintic activity of *Petiveria alliacea* against ticks and nematodes of domestic animals. **Methodology.** Scientific articles were compiled from studies carried out by the animal health academic research group of the Faculty of Veterinary Medicine and Zootechnics of the Autonomous University of Yucatán. The review focused on the use of methanolic extracts and compounds from *P. alliacea* against larvae and adults of *Rhipicephalus microplus*, as well as against nematodes of the order strongylida such as *Ancylostoma* spp., *Haemonchus* spp. and cyathostomins. **Main findings.** Research on the biological activity of *P. alliacea* extracts have shown their acaricidal and anthelmintic potential. Extracts of *P. alliacea* showed high mortality rates on larvae and adult females of *R. microplus* resistant to ixodicides, as well as a decrease in reproductive parameters (inhibition of oviposition and hatching inhibition). The acaricidal activity of *P. alliacea* is attributed to the presence of the sulfur compounds dibenzyl trisulfide and dibenzyl disulfide, which cause histological damage to the reproductive system of adult females, affecting the oogenesis process. Additionally, *P. alliacea* demonstrated broad spectrum anthelmintic activity, exhibiting high percentages of hatching inhibition on *A. caninum*, *H. placei* and cyathostomid eggs. A difference was also observed in the acaricidal and anthelmintic activity depending on the part of the plant and the time of collection. **Implications.** Further studies are needed to identify anthelmintic active compounds of *P. alliacea*, elucidate the mechanisms of action of these compounds, and test both acaricidal and anthelmintic compounds in *in vivo* studies. **Conclusions.** The extracts of *P. alliacea* and its compounds showed high acaricidal and anthelmintic activity against *R. microplus* ticks and nematodes of the order strongylida of domestic animals, due to this, they are a potential control alternative for broad spectrum.

Key words: *Petiveria alliacea*; *Rhipicephalus microplus*; *Ancylostoma caninum*; *Haemonchus placei*; cyathostomids.

RESUMEN

Antecedentes. En las regiones tropicales y subtropicales del mundo las garrapatas y nematodos afectan negativamente la salud y el bienestar de los animales, la búsqueda de alternativas naturales de control de parásitos es necesaria para reducir la resistencia y la dependencia a los antiparasitarios. **Objetivo.** Exponer los principales hallazgos sobre la actividad acaricida y antihelmíntica de *Petiveria alliacea* contra garrapatas y nematodos de animales domésticos. **Metodología.** Se recopilaron artículos científicos de los estudios realizados por el cuerpo académico de salud animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Yucatán. La revisión se centró en el uso de extractos metanólicos y compuestos de *P. alliacea* contra larvas y adultas de *Rhipicephalus microplus*, así como también contra nematodos del orden strongylida como *Ancylostoma* spp., *Haemonchus* spp. y ciatostómidos. **Resultados.** Las investigaciones sobre la actividad biológica de los extractos de *P. alliacea* han expuesto su potencial acaricida/ixodicida y antihelmíntico. Se ha demostrado que los extractos de *P. alliacea* provocan altos porcentajes de mortalidad en larvas y hembras adultas de *R. microplus* resistentes a ixodicidas, así como disminución de parámetros reproductivos (inhibición de la oviposición e inhibición de la eclosión). La actividad acaricida de *P. alliacea* se atribuye

† Submitted July 26, 2021 – Accepted August 24, 2021. This work is licensed under a CC-BY 4.0 International License.
ISSN: 1870-0462.

a la presencia de los compuestos sulfurados trisulfuro de dibencilo y disulfuro de dibencilo, los cuales provocan daños histológicos al sistema reproductor de las hembras adultas, afectando el proceso de ovogénesis. Adicionalmente *P. alliacea* demostró actividad antihelmíntica de amplio espectro, exhibiendo altos porcentajes de inhibición de la eclosión sobre huevos de *A. caninum*, *H. placei* y ciatostómidos. También se observó diferencia en la actividad acaricida y antihelmíntica dependiendo de la parte de la planta y época de colecta. **Implicaciones.** Es necesario continuar con los estudios para la identificación de compuestos activos antihelmínticos de *P. alliacea*, dilucidar los mecanismos de acción de estos compuestos y probar tanto los compuestos acaricidas como los antihelmínticos en estudios *in vivo*. **Conclusiones.** Los extractos de *P. alliacea* y sus compuestos presentan alta actividad acaricida y antihelmíntica contra garrapatas *R. microplus* y nematodos del orden strongylida de animales domésticos, por lo cual son una potencial alternativa de control con amplio espectro.

Palabras clave: *Petiveria alliacea*; *Rhipicephalus microplus*; *Ancylostoma caninum*; *Haemonchus placei*; ciatostómidos.

INTRODUCCIÓN

La cría y el aprovechamiento de los animales domésticos en las regiones tropicales se ve afectada principalmente por los daños directos e indirectos ocasionados por garrapatas y nematodos gastrointestinales, los parásitos más frecuentes y patógenos (Alegría-López *et al.*, 2015). Garrapatas y nematodos gastrointestinales afectan negativamente la salud y el bienestar de los animales parasitados, provocando gran variedad de signos clínicos. Por otro lado, dichas parasitosis ocasionan pérdidas económicas a la producción, además del potencial zoonótico que representan por sí mismos y por su papel como vectores de enfermedades (Cordero del Campillo *et al.*, 1999; Bowman, 2009).

El enfoque tradicional para la prevención y control de garrapatas y nematodos gastrointestinales está basado en el uso de fármacos de amplio espectro disponibles comercialmente. Sin embargo, el uso excesivo e inadecuado ha traído consigo el desarrollo de resistencia ixodídica y antihelmíntica hacia las principales familias antiparasitarias. La situación se torna más crítica al encontrarse cepas de estos parásitos multi-resistentes a antiparasitarios o con resistencia simultánea, como el caso de unidades de producción con garrapatas *Rhipicephalus microplus* y nematodos gastrointestinales resistentes a la ivermectina (Canever *et al.*, 2013; Alegría-López *et al.*, 2015; Chaparro *et al.*, 2017; Kitchen *et al.*, 2019).

La menor efectividad de los tratamientos antiparasitarios actuales ha impulsado la búsqueda de alternativas de control, destacándose la investigación sobre el uso de extractos de plantas con actividad acaricida y antihelmíntica. Los extractos de plantas, así como los productos derivados de los mismos, se han empleado por mucho tiempo como tratamientos adicionales o alternativos a los productos químicos convencionales y han servido como valiosas fuentes para el desarrollo de nuevas moléculas antihelmínticas (Newman y Cragg, 2016; Liu *et al.*, 2020).

Dentro de las plantas del trópico mexicano con amplia actividad biológica, se encuentra *Petiveria alliacea*, la

cual ha demostrado poseer potencial acaricida contra *R. microplus*, y antihelmíntico sobre *Ancylostoma* spp., *Haemonchus* spp. y ciatostómidos (Rosado-Aguilar *et al.*, 2010a; Arceo-Medina *et al.*, 2017; Flota-Burgos *et al.*, 2020). El objetivo de la presente revisión fue recopilar las principales aportaciones de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Yucatán realizadas en el estudio de *P. alliacea* como una potencial alternativa de control de garrapatas y nematodos gastrointestinales en los animales domésticos.

Características de *Petiveria alliacea*

También conocida como anamú, hierba de gallinitas, zorrillo o páay che' en maya, *Petiveria alliacea* es una planta perteneciente a la familia Phytolaccaceae, distribuida en países de Centro y Sur América, el Caribe y África. *P. alliacea* es descrita como una hierba perenne, de tallo recto y poco ramificado, con altura de 50 hasta 150 cm (Figura 1). Posee pequeñas flores de color blanco dispuestas en racimos de 25 cm de largo aproximadamente, ubicadas hacia las puntas de las ramas. Los frutos son bayas secas y cuneiformes, que giran completamente quedando pegados al eje del racimo, pero apuntando hacia abajo. Una de sus principales características es su fuerte olor a ajo o a zorrillo. Además, *P. alliacea* florece y fructifica durante todo el año, por lo cual tiene una buena disponibilidad en todo momento (CONABIO, 2009; Sariego-Frómata *et al.*, 2013).

Actividad biológica de *Petiveria alliacea*

Esta planta se ha empleado en la medicina tradicional herbolaria y se le han atribuido diversas propiedades biológicas. El extracto de *P. alliacea* ha demostrado tener propiedades antimicrobianas y antifúngicas contra microorganismos como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y diversas especies de *Candida* spp. (Guedes *et al.*, 2009; Mulyani *et al.*, 2018).

Las propiedades anticancerígenas de *P. alliacea* fueron descubiertas desde 1960 en Managua, Nicaragua, al observarse que vacas con leucemia mejoraron su

condición después del consumo de *P. alliacea* durante el pastoreo (Correa y Bernal, 1990). A partir de ese hecho, se han realizado investigaciones en diferentes líneas de células tumorales, demostrando que los extractos de *P. alliacea* pueden inhibir la proliferación de células tumorales (Alonso, 2007; Silva et al., 2018; Rajesh et al., 2019). Lemus et al. (2004) mencionan que los extractos de *P. alliacea* y sus constituyentes presentan propiedades inmunomoduladoras a través de la mediación celular y modulación de la liberación de diferentes citocinas. Lopes-Martins et al. (2002) reportaron que el extracto de las raíces de *P. alliacea* administrada a ratas con pleuresía inducida demostró poseer propiedades analgésicas y antiinflamatorias en comparación de las ratas del grupo control.



Figura 1. Aspecto de *Petiveria alliacea* (Flota-Burgos, 2019).

En la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Yucatán, la investigación acerca de la actividad biológica de los extractos de *P. alliacea* se ha centrado en su potencial como una alternativa para el control de garrapatas y nematodos gastrointestinales de animales domésticos (Rosado-Aguilar et al., 2010a; Rosado-Aguilar et al., 2010b; Flota-Burgos et al., 2017; Flota-Burgos et al., 2020).

Actividad acaricida *in vitro* de *P. alliacea*

Las garrapatas y las enfermedades que transmiten son un impedimento importante en la cría y bienestar de los animales. El género *Rhipicephalus* spp. se encuentra distribuido en diversas áreas geográficas a nivel mundial, mostrando gran capacidad de adaptación y propagación (Cordero del Campillo et al., 1999; Bowman, 2009). La especie *R. microplus* afecta gravemente a la ganadería bovina de México, produciendo pérdidas económicas estimadas en 571.61 millones de dólares anuales únicamente por concepto de animales no tratados (Rodríguez-Vivas et al., 2019). Aunado al impacto negativo antes mencionado de *R. microplus*, el problema de resistencia a los fármacos ixodicidas disponibles se agrava día con día (Alegría-

López et al., 2015). El extracto metanólico de *P. alliacea* ha demostrado poseer actividad acaricida, reportándose altas eficacias contra diferentes estadios de *R. microplus* (Tabla 1). Rosado-Aguilar et al. (2010a) evaluaron la eficacia contra larvas de *R. microplus* resistentes a ixodicidas (piretroides sintéticos, organofosforados y amitraz) de 15 plantas, dentro de las que se encontraba *P. alliacea*. El extracto metanólico (concentración del 10%) de las hojas, tallo y raíz de *P. alliacea* fue evaluado a través de la prueba de inmersión larval, encontrándose altos porcentajes de mortalidad con el extracto proveniente de las hojas (95.7%) y el tallo (99.2%), mientras que al emplear el extracto proveniente de las raíces la eficacia fue moderada (59.6%).

En otro estudio, el extracto metanólico de hojas y tallo de *P. alliacea* a una concentración del 20% obtuvo 100% de mortalidad sobre larvas de *R. microplus* resistentes a ixodicidas, mientras que con los mismos extractos a una concentración del 10% se observó mortalidad de 95.5% y 94.7%, respectivamente. Se determinaron las concentraciones letales al 50 y 99% (CL_{50} y CL_{99}) (mg/ml), éstas fueron de 4.30 y 12.29 mg/ml para el extracto de hojas y 3.88 y 16.52 mg/ml para el extracto proveniente del tallo (Rosado-Aguilar et al., 2010b). El extracto metanólico de *P. alliacea* también ha sido desafiado contra el estadio adulto (hembras) de *R. microplus* resistentes a ixodicidas. Al evaluar el extracto proveniente del tallo al 20% de concentración se observó 86.6% de mortalidad de hembras adultas, mientras que, al disminuir la concentración al 10%, la mortalidad bajó al 40.0%. En la evaluación del extracto proveniente de hojas se obtuvieron bajos porcentajes de mortalidad sobre las hembras adultas (26.6% al 20% de concentración y 23.3% al 10% de concentración). Además de la mortalidad de las hembras adultos, se evaluaron indicadores reproductivos como el porcentaje de inhibición de la oviposición (PIO) y el porcentaje de inhibición de la eclosión (PIE). El mayor PIO (91.0%) se obtuvo con el extracto proveniente del tallo a una concentración del 20% y éste fue estadísticamente significativo. Se observaron menores PIO con el extracto del tallo al 10% (56.8%) y con el extracto de las hojas al 20% (40.1%) y 10% (28.2%). En cuanto al PIE, no se encontró diferencia estadística entre los extractos evaluados, encontrándose porcentajes del 16.0 al 26.0% (Rosado-Aguilar et al., 2010b). Estos resultados evidenciaron el potencial acaricida del tallo de *P. alliacea* sobre larvas y hembras adultas de *R. microplus*, afectando su supervivencia y reproducción.

Arceo-Medina et al. (2017) evaluaron el efecto de la época del año y sitio de colecta del extracto de las hojas y el tallo de *P. alliacea* (20%, 10%, 5% y 2.5%) sobre su actividad contra larvas de *R. microplus* resistentes a ixodicidas (Tabla 1). La época de colecta se dividió en lluvias y secas, mientras que se identificaron tres

diferentes sitios de colecta (Tabla 2). De manera general, el extracto proveniente del tallo obtuvo porcentajes de mortalidad más altos en comparación con el extracto proveniente de hojas ($P < 0.05$), a excepción del sitio 3 de colecta. En cuanto al efecto de la época de colecta, los mayores porcentajes de mortalidad se encontraron con los extractos colectados en secas (CS), en los tres sitios, en comparación con los colectados en lluvias (CLL). El extracto del tallo CS demostró tener porcentajes de mortalidad superiores al 92% a partir del 10% de concentración (sitio 1 y 2), mientras que el extracto CLL mostró mortalidad de 88.3% y 91.9% a una concentración de 20% y de 67.3% y 65.4% a la concentración de 10%, en los sitios 1 y 2, respectivamente.

El extracto de hojas CS mostró porcentajes de mortalidad de 96.0%, 83.8% y 56.8% a la concentración del 20% en los sitios 1, 2 y 3 de colecta respectivamente. Por otro lado, cuando el extracto de hojas perteneció a la CLL se obtuvieron porcentajes de mortalidad de 93.5% (sitio 1), 58.6% (sitio 2) y 72.0% (sitio 3), a la misma concentración.

Las menores CL_{50} (mg/ml) se obtuvieron con el extracto del tallo CS, éstas fueron de 1.7 y 2.2, en tanto que con el tallo CLL fueron de 6.6 y 7.5 para el sitio 1 y 2, respectivamente. Las CL_{50} obtenidas al evaluar el

extracto de la hoja CS fueron de 4.4, 8.2 y 18.3 mg/ml y para el extracto de la hoja CLL fueron de 7.2, 15.8 y 10.6 mg/ml para los sitios 1, 2 y 3 respectivamente. Las CL_{50} del extracto del tallo para el sitio 3 fueron más elevadas en comparación con los sitios 1 y 2, en ambas épocas de colecta, siendo de 22.4 mg/ml en CS y 38.7 mg/ml en CLL. De igual forma, los menores porcentajes de mortalidad del extracto del tallo se obtuvieron con la colecta del sitio 3, independientemente de la época de colecta (54.9% en CS y 33.0% en CLL, al 20% de concentración). Las menores CL_{50} del extracto de la hoja se obtuvieron del sitio 1 en ambas épocas de colecta (4.4 mg/ml en CS y 7.2 mg/ml en CLL). Sin embargo, únicamente la CL_{50} de la hoja CS del sitio 1 fue estadísticamente significativa. Las CL_{50} del extracto del tallo CS en el sitio 1 y 2 y el extracto de hoja CS en el sitio 1 son similares a los reportados por Rosado-Aguilar *et al.* (2010b).

Arceo-Medina *et al.* (2017) demostraron que la época del año y el sitio de colecta tienen influencia en la actividad del extracto de *P. alliaceae*, reflejándose en las diferencias encontradas en los porcentajes de mortalidad y CL_{50} . Se observó una mayor actividad contra larvas de *R. microplus* para los extractos colectados en la época de secas en el sitio 1 en comparación con el sitio 2 y 3. Dicha variación podría

Tabla 1. Actividad acaricida *in vitro* del extracto metanólico de *Petiveria alliaceae* sobre larvas y adultas de *Rhipicephalus microplus*.

| Estadio | Extracto | Época de colecta | Porcentaje de mortalidad (concentración: 20%) | Concentraciones letales (mg/ml) (IC) | Referencia |
|-----------------|----------|------------------|---|--------------------------------------|--------------------------------------|
| Larvas | Tallo | --- | 99.2 | --- | Rosado-Aguilar <i>et al.</i> , 2010a |
| | | --- | 100 | 3.8 (3.2-4.5) | Rosado-Aguilar <i>et al.</i> , 2010b |
| | | Secas | 100 | 1.7 (1.1-2.2) | Arceo-Medina <i>et al.</i> , 2017 |
| | | Secas | 99.3 | 2.2 (1.6-2.8) | |
| | | Lluvias | 91.9 | 7.5 (6.9-8.2) | |
| | | Lluvias | 88.3 | 6.6 (5.7-7.6) | |
| | Hojas | --- | 95.7 | --- | Rosado-Aguilar <i>et al.</i> , 2010a |
| | | --- | 100 | 4.3 (3.9-4.7) | Rosado-Aguilar <i>et al.</i> , 2010b |
| | | Secas | 96.3 | 4.4 (.1-5.5) | Arceo-Medina <i>et al.</i> , 2017 |
| | | Secas | 83.8 | 8.2 (5.8-11.8) | |
| Hembras adultas | Tallo | --- | 86.6 | --- | Rosado-Aguilar <i>et al.</i> , 2010b |
| | | --- | 26.6 | --- | |

Tabla 2. Condiciones ambientales según el sitio de colecta (CONAGUA, 2013; Arceo-Medina et al., 2017).

| Sitio | Características |
|---------------------|---|
| 1 - Yaxcabá | 29m sobre el nivel del mar, temperatura media anual de 25.9°C, precipitación media anual de 1,111 mm y humedad relativa del 89%. Los suelos característicos de esta región son los cambisoles, calcisoles y, en menor medida, los luvisoles. |
| 2 - Hunucmá | Temperatura media anual de 26°C, precipitación media anual de 1,200 mm y 10m sobre el nivel del mar. El suelo predominante es de textura pedregosa (“T´zekel”), fértil, pero con poca retención de humedad. Los suelos de esta región están poco desarrollados e incluyen una combinación de leptosoles y cambisoles. |
| 3 - Colonia Yucatán | Se encuentra a 17m sobre el nivel del mar, con precipitación media anual de 1,084 mm y humedad relativa del 77%. Los suelos predominantes son leptosoles y cambisoles, con alto porcentaje de pedregosidad. |

estar asociada con el tipo de suelo predominante en el sitio 1, calcisol, que no está presente en el sitio 2 y 3. Factores característicos de la época de secas como la baja disponibilidad de agua, la temperatura y la radiación solar parecen jugar un papel importante en la concentración de metabolitos secundarios de las plantas (Castelo et al., 2012; Liang et al., 2012).

El suelo de tipo calcisol se caracteriza por la acumulación de carbonatos secundarios y cementados, lo que significaría una mayor disponibilidad de carbono en el suelo y una mayor capacidad en la producción de metabolitos secundarios en las condiciones de estrés descritas anteriormente para la época de secas, dando como resultado la alta actividad acaricida de *P. alliecia* CS en el sitio 1 (Bryant et al., 1995).

Los estudios descritos anteriormente demuestran la alta actividad acaricida que posee el extracto de *P. alliecia*, provocando altos porcentajes de mortalidad en larvas y adultas de *R. microplus*, además de afectar parámetros reproductivos de hembras adultas. Cabe recalcar que en los estudios presentados se utilizaron larvas y adultas de *R. microplus* con diagnóstico previo de resistencia ixodida. Por tanto, esta planta representa una potencial alternativa para el control de garrapatas.

Actividad antihelmíntica *in vitro* de *P. alliecia*

Los nematodos gastrointestinales (NGI), junto con las garrapatas, son los principales parásitos que ocasionan pérdidas y afectan negativamente la salud, productividad y bienestar de cualquier animal. La actividad antihelmíntica de los extractos crudos de *P. alliecia* también ha sido explorada, obteniendo resultados prometedores como una futura alternativa al control químico.

Las primeras evidencias de la actividad antihelmíntica de *P. alliecia* se obtuvieron sobre huevos de *Ancylostoma* spp. Este NGI afecta principalmente a perros de todas las edades y es considerado uno de los más frecuentes y patógenos. Cabe destacar el potencial zoonótico de este agente al provocar el “síndrome de larva migrans cutánea” en humanos, caracterizado por una dermatitis pruriginosa (Cordero del Campillo et al., 1999; Bowman, 2009). Aunado a esto, actualmente se cuentan con reportes de *Ancylostoma* spp. resistente a bencimidazoles, pirantel e ivermectina y de poblaciones multi-resistentes (Kopp et al., 2008; Kitchen et al., 2019).

Arjona-Cambranes et al. (2016) evaluaron extractos metanólicos de hojas y tallo de *P. alliecia*, colectados en época de secas (CS) y de lluvias (CLL), sobre los huevos de *Ancylostoma* spp. Los extractos fueron evaluados mediante la prueba de inhibición de la eclosión, a concentraciones de 300, 600, 1200, 2400 y 3600 µg/ml. Los extractos CLL obtuvieron los mayores porcentajes de inhibición de la eclosión (PIE) ($\geq 93.8\%$ a partir de 300 µg/ml) en comparación con los extractos CS. En cuanto a la parte de la planta evaluada, no se encontró diferencia significativa entre el extracto proveniente de hojas y de tallo. Se observó que el principal efecto ocasionado por los extractos de *P. alliecia* en los huevos de *Ancylostoma* spp. fue la inhibición de la eclosión de L₁, en todas las concentraciones evaluadas. Debido a los altos PIE obtenidos no se lograron determinar las CL₅₀ y CL₉₉ de los extractos evaluados. Este estudio fue el precedente para el desarrollo de la investigación en la FMVZ-UADY sobre el potencial antihelmíntico de *P. alliecia*.

Posteriormente, los extractos de *P. alliecia* fueron evaluados sobre ciatostómidos. Los ciatostómidos son los NGI más prevalentes y patógenos en equinos de todo el mundo, con prevalencias de hasta 100% (Morariu et al., 2016). Los programas tradicionales de

control químico han favorecido el desarrollo de resistencia antihelmíntica a las principales familias comerciales, tal es el caso de los bencimidazoles, las pirimidinas y lactonas macrocíclicas (Canever *et al.*, 2013; Bellow *et al.*, 2018). Flota-Burgos *et al.* (2017) evaluaron los extractos metanólicos de hojas y tallo *P. alliacea*, colectada en dos épocas del año, sobre huevos de ciatostómidos.

La mayor actividad antihelmíntica se observó con el extracto proveniente del tallo CLL (PIE de 97% a 75 µg/ml). El extracto de las hojas CLL alcanzó PIE similares (98.9%), al doble de concentración. Por otra parte, la máxima actividad antihelmíntica de las hojas y tallo CS demostró PIE superiores a 97% a la concentración de 300 µg/ml. La menor CL₅₀ se obtuvo con el extracto de tallo CLL, siendo de 28.2 µg/ml, y no se encontró diferencia significativa entre esta CL₅₀ y las obtenidas con los extractos pertenecientes a las hojas CLL y CS (38.2 y 31.3 µg/ml, respectivamente). La estructura de *P. alliacea* que mostró mayor actividad fue la misma que obtuvo alta actividad acaricida, coincidiendo con lo reportado por Arceo-Medina *et al.* (2017); sin embargo, la época de colecta fue diferente, observándose los más altos PIE en huevos de ciatostómidos cuando la planta fue colectada en época de lluvias y los más altos porcentajes de mortalidad en larvas de *R. microplus* cuando la colecta se realizó durante la época de secas. Lo anterior refuerza la hipótesis de que variantes como la época de colecta y los factores ambientales pueden influir en la actividad biológica de los extractos de plantas, además de que los metabolitos secundarios responsables de la actividad acaricida y antihelmíntica pueden ser diferentes (Modak, 2010; Liang, 2012).

El principal efecto del extracto de *P. alliacea* sobre los huevos de ciatostómidos fue la inhibición de la eclosión, también llamado “L₁ que fallan la eclosión”, coincidiendo con lo reportado por Arjona-Cambranes *et al.* (2016). Dicho efecto se ha asociado a metabolitos secundarios de la planta que evitan cambios en la permeabilidad de la membrana que son necesarios para la eclosión, inhibición de enzimas involucradas en el proceso de eclosión o la competencia con receptores de factores de eclosión presentes en la membrana del huevo (Vargas-Magaña *et al.*, 2014). Se observó que, a partir de 75 µg/ml, el extracto del tallo CLL obtuvo PIE similares al tiabendazol, antihelmíntico comercial con reportes de resistencia.

En el ganado bovino, el NGI más prevalente y patógeno es *Haemonchus* spp., el cual afecta negativamente la salud y bienestar de los animales que parasita, así como su producción y por ende, representa pérdida económicas (Cordero del Campillo *et al.*, 1999; Bowman, 2009). En un estudio piloto, se evaluó la actividad antihelmíntica de *P. alliacea* sobre nematodos del orden Strongylida de bovinos,

obteniéndose 100% de inhibición de la eclosión (3600 µg/ml) sobre huevos de *Haemonchus* spp. y *Trichostrongylus* spp. (Rosado-Aguilar *et al.*, 2016).

Los estudios mencionados anteriormente evidenciaron el potencial antihelmíntico de *P. alliacea*. Sin embargo, surgió la interrogante sobre el espectro de acción de los extractos de *P. alliacea* sobre los principales NGI del orden Strongylida, ya que, antes de la aparición de la resistencia antihelmíntica, una de las grandes ventajas de los antihelmínticos comerciales era su amplio espectro de acción. Flota-Burgos *et al.* (2020) evaluaron la actividad antihelmíntica de extractos de hojas y tallo de *P. alliacea*, colectado en dos épocas del año, sobre huevos de *Ancylostoma* spp., *Haemonchus* spp. y ciatostómidos de caninos, bovinos y equinos, respectivamente. Los PIE más altos se obtuvieron con el extracto del tallo CLL sobre los huevos de los tres NGI evaluados. Con el extracto del tallo CLL se alcanzó un PIE $\geq 97.1\%$ sobre *A. caninum* a partir de la concentración de 75 µg/ml, mientras que en el caso de *H. placei* y ciatostómidos se obtuvo un PIE $\geq 91.6\%$ a partir de 150 µg/ml. A partir de las concentraciones antes mencionadas, los PIE obtenidos con los extractos fueron estadísticamente similares a los obtenidos con tiabendazol. Con el extracto del tallo CS se requiere el doble de concentración para alcanzar los PIE obtenidos con la colecta de lluvias: 150 µg/ml (97.8%) para *A. caninum* y 300 µg/ml en el caso de *H. placei* (97.0%) y ciatostómidos (98.2%).

Por otro lado, con los extractos de hojas de *P. alliacea* CLL se obtuvieron PIE ≥ 98.9 a 150 µg/ml sobre *A. caninum* y $\geq 94.0\%$ a 300 µg/ml para *H. placei* y ciatostómidos. De manera similar a lo observado con el extracto proveniente del tallo, la colecta de secas requirió una concentración mayor para alcanzar PIE similares a la colecta de lluvias: 300 µg/ml ($\geq 91.7\%$) en el caso de *A. caninum* y *H. placei*, mientras que para ciatostómidos se requirió 600 µg/ml para alcanzar un PIE de 98.6%. El extracto del tallo CLL obtuvo las menores CL₅₀ y CL₉₉ sobre *A. caninum* (33.3 y 79.5 µg/ml), *H. placei* (78.9 y 178.0 µg/ml) y ciatostómidos (68.6 y 277.4 µg/ml).

Contrario a lo reportado por Arjona-Cambranes *et al.* (2016) y Flota-Burgos *et al.* (2017), los extractos de *P. alliacea* demostraron tener efecto ovicida sobre los huevos de los tres NGI evaluados. Este efecto involucra la inhibición del desarrollo larval, por lo cual, los huevos expuestos al extracto se quedan en fase de mórula y no se desarrollan a L₁. La actividad ovicida se explica por el tamaño pequeño de los compuestos secundarios responsables de la actividad antihelmíntica, lo que les permitiría ingresar fácilmente a los huevos tratados y afectar el desarrollo de la mórula a L₁ (Vargas-Magaña *et al.*, 2014). Flota-Burgos *et al.* (2020) modificaron el proceso de dilución de los extractos, adicionaron 5% de etanol y

utilizaron un baño de ultrasonido para asegurar una dilución homogénea de los extractos evaluados. Esto podría explicar la diferencia observada en el efecto de *P. alliacea* en comparación con estudios previos. La elección de un solvente adecuado para la evaluación *in vitro* de extractos de plantas de interés es de suma importancia, un disolvente inadecuado puede ser tóxico para los huevos de NGI a evaluar, generando falsos positivos o enmascarando el verdadero efecto. Se pueden perder materiales potenciales para el desarrollo de nuevas alternativas por factores ajenos al extracto como una mala dilución, técnicas inadecuadas o el uso de solventes inadecuados (D'Angelo *et al.*, 2014; Chagas, 2015). Cabe recalcar que el efecto ovicida demostrado por los extractos de *P. alliacea* es similar al ocasionado por el tiabendazol, por tanto, es probable obtener eficacias y efectos similares a los antihelmínticos empleados actualmente y a los cuales, los NGI evaluados han desarrollado resistencia.

Las diferencias en los PIE y concentraciones letales observadas en este estudio al comparar extractos colectados en época de lluvias contra la época de secas están determinadas por la variación estacional y su influencia en la concentración y composición de metabolitos secundarios. Se ha encontrado que existe una mayor concentración de metabolitos secundarios con actividad biológica (como aceites esenciales, flavonoides y terpenos, entre otros) en los meses correspondientes a la época de lluvias (Castelo *et al.*, 2012; Mediouni *et al.*, 2012; Sariago-Frómeta *et al.*, 2013; Anese *et al.*, 2014). Aunado a esto, y como se mencionó anteriormente, los metabolitos secundarios responsables de la actividad antihelmíntica de *P. alliacea* pueden ser diferentes de los que le confieren actividad acaricida, lo que explicaría el comportamiento de la planta contra garrapatas en época de secas y contra NGI en época de lluvias.

Los estudios mencionados anteriormente comprueban que los extractos de *P. alliacea* tienen potencial antihelmíntico de amplio espectro contra NGI del orden Strongylida, representando una posible alternativa de control.

Metabolitos secundarios con actividad biológica reportados en *P. alliacea*

Los sulfurados representan los principales metabolitos secundarios aislados de *P. alliacea*, son una clase de compuestos orgánicos azufrados con una amplia gama de actividades biológicas. Se han encontrado flavonoides y sus derivados en extractos de la parte aérea de *P. alliacea*, así como mono y triterpenoides en su composición. También se reporta la presencia de derivados de aminoácidos y los aceites esenciales obtenidos de diferentes partes de la planta revelan la presencia de compuestos como fenilpropanoides,

terpenoides y numerosos benzenoides (Delle y Cuca, 1992; Benevides *et al.*, 2001; Silva *et al.*, 2018).

Después de encontrar altos porcentajes de eficacia con el extracto del tallo de *P. alliacea* sobre larvas de *R. microplus*, Rosado-Aguilar *et al.* (2010b) llevaron a cabo un fraccionamiento biodirigido para aislar la fracción activa y, posteriormente, identificar los metabolitos secundarios mayoritarios. El extracto metanólico del tallo se particionó con *n*-hexano, acetato de etilo y metanol (residual), cada partición fue evaluada al 10% mediante el test de inmersión larval, obteniéndose mortalidades de 93.6%, 6.4% y 5.2%, respectivamente. La partición de *n*-hexano se fraccionó, obteniéndose 10 fracciones (A-J). Dichas fracciones fueron evaluadas al 10% sobre larvas de *R. microplus*, encontrándose la fracción B con mayor porcentaje de mortalidad (100%). En la fracción activa se identificaron trisulfuro de dibencilo (63.1%) y disulfuro de dibencilo (32.5%) como los metabolitos secundarios con mayor abundancia y a los cuales se les atribuyó la actividad acaricida del extracto de *P. alliacea*. También se encontraron metil éster de ácido hexadecanoico (2.8%), metil éster de ácido octadecanoico (0.7%), metil éster de ácido octadecadienoico (0.4%) y cis-estilbeno (0.3%).

Si bien el conocer los metabolitos secundarios presentes en un extracto con alta actividad biológica nos acerca al descubrimiento de una alternativa de control, es necesario conocer si dichos compuestos actúan individualmente o presentan sinergismo entre ellos. Contrario a lo que se cree, se ha demostrado que los compuestos minoritarios presentes en un extracto pueden funcionar como metabolitos sinérgicos, potencializando el efecto y produciendo una mayor eficacia que los componentes individuales (Hummelbrunner e Isman, 2001; Dyer *et al.*, 2003). Arceo-Medina *et al.* (2017) observaron que existe una variación en la concentración de los compuestos mayoritarios (trisulfuro de dibencilo y disulfuro de dibencilo) relacionada con el sitio (Tabla 2) y la época de colecta. Los extractos del tallo de los sitios 1 y 2 mostraron concentraciones más altas de disulfuro de dibencilo (0.641% y 0.666%) en comparación con el extracto del tallo colectado en época de lluvias (0.493% y 0.492%). En el caso del trisulfuro de dibencilo, este se encontró en mayor concentración en el extracto del sitio 1 colectado en secas (0.860%) en comparación con la colecta de lluvias (0.490%). La mayor actividad acaricida y mayor concentración de metabolitos secundarios en la época de secas puede deberse a la influencia de factores abióticos como la radiación solar y el estrés hídrico, así como la fisiología de las plantas que, al enfrentarse a la baja disponibilidad de agua, cierran sus estomas, restringiendo el proceso de fotosíntesis, permitiendo la acumulación de carbohidratos no estructurales y aumentando la síntesis de sustancias de defensa

(Chaves *et al.*, 2001; Santacoloma y Granados, 2010). El compuesto trisulfuro de dibencilo no se encontró en el sitio 2 a pesar de mostrar altos porcentajes de mortalidad, mientras que el extracto del tallo colectado en el sitio 3 mostró altas concentraciones de disulfuro y trisulfuro de dibencilo; sin embargo, no obtuvo altos porcentajes de mortalidad en ambas épocas de colecta. Esto sugiere que otros metabolitos secundarios, además de los compuestos sulfurados identificados, están involucrados en la actividad acaricida de *P. alliacea* y que pueden actuar de manera sinérgica o antagonista.

Los seis compuestos identificados por Rosado-Aguilar *et al.* (2010b) en el extracto del tallo de *P. alliacea* se evaluaron de manera individual y en combinaciones contra larvas y adultas de *R. microplus* resistentes a amitraz, cipermetrina e ivermectina. Arceo-Medina *et al.* (2016) observaron que, al ser evaluados individualmente al 1%, los compuestos no ocasionaron un efecto apreciable en la mortalidad (<3%) de las larvas expuestas. Posteriormente, evaluaron 57 mezclas de los compuestos, cuyas concentraciones en las mezclas fue de 0.631% de trisulfuro de dibencilo (BTS), 0.325% de disulfuro de dibencilo (BDS), 0.003% de cis-estilbeno (CS), 0.028% de metil éster de ácido hexadecanoico (MEHA), 0.007% de metil éster de ácido ocatadecanoico (MEDA) y 0.004% de metil éster de ácido octadecadienoico (MEOA), según lo reportado por Rosado-Aguilar *et al.* (2010b). Contrario a los resultados individuales, al realizar las mezclas, la sinergia de los compuestos logro ocasionar hasta el 100% de mortalidad de las larvas (Hummerlbrunner and Isman, 2001; Arceo-Medina *et al.*, 2016). Se observó una mortalidad de larvas del 92.6% en la mezcla binaria de compuestos sulfurados, mientras que las mezclas binarias restantes mostraron bajas tasas de mortalidad (de 0.0% a 38.1%). Del total de mezclas evaluadas, aquellas que tenían la base de BTS con BDS exhibieron tasas de mortalidad superiores al 80% sobre larvas expuestas. Cuando los compuestos sulfurados se mezclaron con los ácidos grasos y el cis-estilbeno, las tasas de mortalidad aumentaron a más del 92.6% (9 mezclas). Las mezclas identificadas como M1 (BDS + DTS + MEHA + MEOA + CS), M2 (BDS + BTS + MEHA + MEOA + MEDA + CS), M3 (BDS + BTS + MEOA + MEDA + CS) y M4 (BDS + BTS) obtuvieron las CL₅₀ más bajas (0.07 a 0.23%), éstas no fueron diferentes estadísticamente entre ellas. Las cinco combinaciones restantes requirieron concentraciones más altas para matar el 50% de las larvas expuestas. Con respecto a las CL₉₉ no se observaron diferencias significativas entre las nueve mezclas. Se concluyó que los compuestos responsables de la sinergia y de la actividad acaricida de *P. alliacea* contra larvas de *R. microplus* resistentes a ixodicidas son los compuestos sulfurados, concordando con lo sugerido previamente por Rosado-Aguilar *et al.* (2010b).

Las nueve mezclas que presentaron alta mortalidad sobre larvas fueron evaluadas contra hembras adultas de *R. microplus* resistentes a ixodicidas. Ninguna de las mezclas causó alta mortalidad (<14.5%) ni logró inhibir de manera significativa la oviposición de las hembras adultas (> 33%). Las mezclas M4 (BDS + BTS) y M7 (BDS + BTS + MEDA) ocasionaron 97.7% y 92.2% de inhibición de la eclosión de los huevos puestos por las hembras adultas. Los huevos afectados se observaron de color oscuro, secos, opacos y menos adhesivos en comparación con el grupo control. Aparentemente los compuestos sulfurados evaluados interfieren en la embriogénesis y afectan la secreción de cera protectora sobre el huevo, que en condiciones normales evita su desecación y permite que se adhiera a otros huevos para su protección contra condiciones extremas (Booth *et al.*, 1986; Lyndon *et al.*, 1997; Arceo-Medina *et al.*, 2016).

Por otra parte, Arceo-Medina *et al.* (2020) evaluaron el efecto de los dos compuestos sulfurados y el *Trans* 9- metil éster de ácido octadecenoico de *P. alliacea* sobre el proceso de ovogénesis de garrapatas adultas *R. microplus* para determinar el posible mecanismo de acción que ejercen dichos compuestos. Se evaluaron las mezclas de BDS + BTS y BDS + BTS + MEDA al 1% de concentración. Las proporciones de los compuestos en las mezclas se realizaron de acuerdo a lo reportado por Rosado-Aguilar *et al.* (2010b) y Arceo-Medina *et al.* (2016). Se observó que ninguna de las dos mezclas obtuvo altos porcentajes de mortalidad sobre las hembras adultas (26.4% y 23.2%, respectivamente). En la inhibición de la oviposición (15 días post-tratamiento) se observaron eficacias de 85.6% y de 80.3%, respectivamente. Sin embargo, a los 21 días post-oviposición, se encontraron eficacias del 7% para la primera mezcla y de 57.3% para la segunda mezcla en el porcentaje de inhibición de la eclosión. Microscópicamente, los huevos tratados con ambas mezclas presentaron un aspecto oscuro, seco, opaco y eran menos adherentes en comparación con los grupos controles.

La histopatología reveló que en las garrapatas sometidas a la inmersión con ambas mezclas se observó la presencia de núcleos con lisis celular y presencia de espacios vacíos en las células del pedicelo, en comparación con los grupos control en donde dichas células no presentaron deformidades o alteraciones. De igual forma, se observaron cambios en la estructura normal de sus ovocitos en comparación de las garrapatas de los grupos no tratados. Los ovocitos I y II presentaban una vesícula germinal con dos nucléolos. En los ovocitos de estadio IV y V se observaron pliegues y deformaciones en toda su longitud, presencia de vacuolas en su citoplasma, localizadas en o alrededor de la vesícula germinal, así como ruptura y formación incompleta de los ovocitos.

Estas lesiones son compatibles con el efecto tóxico en ovocitos y estructuras celulares cercanas observado con extractos de *Guarea kunthiana*, *Melia azedarach* y *Azadirachta indica* sobre *R. microplus* (Denardi *et al.*, 2011; Souza *et al.*, 2013; Barbosa *et al.*, 2016).

Se encontraron lesiones similares con ambas mezclas; sin embargo, se encontró mayor presencia de ovocitos IV y V en la mezcla que incluyó MEDA. Esto podría deberse al efecto antagonista por parte de MEDA, concordando con lo reportado por Arceo-Medina *et al.* (2016), quienes al incluir dicho compuesto en mezclas de BDS + BTS notaron un 30% de reducción de la actividad contra larvas de *R. microplus*. Rösner *et al.* (2001) atribuyen este efecto a la alteración entre puentes de sulfuro, perdiéndose la unión entre componentes y, por consiguiente, el efecto anteriormente observado.

A pesar de no poseer actividad significativa en la mortalidad de garrapatas adultas, es sobresaliente el marcado efecto que tienen los compuestos evaluados sobre aspectos reproductivos de las garrapatas, por lo que son de interés en el estudio de *P. alliacea* como alternativa para el control de garrapatas.

En el caso de la actividad antihelmíntica de *P. alliacea* contra nematodos gastrointestinales todavía no se cuenta con la identificación de los metabolitos secundarios responsables de dicha actividad, por lo que el objetivo a futuro de esta línea de investigación involucra la determinación de los mismos, así como sus posibles mecanismos de acción.

Perspectivas a futuro en la investigación de la actividad acaricida y antihelmíntica de *P. alliacea*

Como resultado de las investigaciones presentadas anteriormente, hoy conocemos la actividad acaricida y antihelmíntica de *P. alliacea*. Sin embargo, para que dicho potencial pueda aprovecharse y ser una real alternativa de control, hace falta conocer aspectos que complementen los conocimientos que se tienen hasta el momento. A continuación, se mencionan las principales perspectivas que, a futuro, podrían ser objetivos de las investigaciones de esta línea.

a) Espectro de acción de los extractos de *P. alliacea*.

Una de las principales ventajas que ofrecen los antiparasitarios disponibles comercialmente es su amplio espectro de acción (Nixon *et al.*, 2020). El amplio espectro de acción de *P. alliacea* contra huevos de NGI del orden Strongylida ha sido documentado. Sin embargo, los extractos de *P. alliacea* aún no han sido evaluados contra NGI de otro orden, por ejemplo, los ascáridos, quienes también son considerados NGI de importancia veterinaria (Bowman, 2009). En el caso de la actividad acaricida, esta se reportó contra *R. microplus*, la principal garrapata que afecta al ganado

bovino. Existen otras especies de garrapatas que también ocasionan daños importantes en la ganadería bovina y que se encuentran presentes en el país, como es el caso de *Amblyomma* spp. Otra especie podría ser, la garrapata *R. sanguineus*, la cual parasita frecuentemente a perros y gatos, actuando como vector de enfermedades de importancia en salud pública. Por tanto, valdría la pena evaluar el espectro de acción de extractos de *P. alliacea* sobre otros géneros y especies de garrapatas (Ojeda-Chi *et al.*, 2019; Pérez de León *et al.*, 2020).

b) Identificación de los compuestos secundarios responsables de la actividad biológica.

La identificación de los compuestos secundarios presentes en el tallo de *P. alliacea* ha ayudado a entender de mejor forma su potencial acaricida sobre *R. microplus*. Es necesario identificar cuáles son los compuestos secundarios que le confieren actividad antihelmíntica a *P. alliacea*, dados los resultados obtenidos por Arceo-Medina *et al.* (2017) y Flota-Burgos *et al.* (2020), se plantea la hipótesis de que los compuestos secundarios responsables de la actividad acaricida son diferentes de los compuestos que confieren actividad antihelmíntica. La identificación de los compuestos responsables de la actividad biológica de las plantas permite avanzar en el desarrollo de nuevos fármacos antiparasitarios (Jain *et al.*, 2019).

c) Mecanismos de acción específicos.

Posterior a la identificación de los compuestos responsables de la actividad biológica de *P. alliacea*, se requiere conocer cuáles son los mecanismos de acción que ocasionan los efectos observados. Arceo-Medina *et al.* (2020) observaron que la exposición a los compuestos BTS y BDS afectaban el proceso de ovogénesis y los órganos reproductivos de garrapatas adultas. Se desconoce cuál es el mecanismo de acción de dichos compuestos sulfurados sobre las larvas de *R. microplus*. En el caso de la actividad antihelmíntica de *P. alliacea*, se conoce que ocasiona un efecto ovicida sobre los huevos de NGI tratados. Sin embargo, se desconoce el mecanismo de acción específico. En adición a las pruebas de evaluación de la actividad biológica, el uso de otras técnicas como la microscopía electrónica podría proveer más información acerca del mecanismo de acción de los extractos de plantas sobre la ultraestructura de garrapatas y huevos de NGI tratados, complementando el efecto observado por microscopía óptica o estereoscopia en la estructura de los mismos.

d) Estudios *in vivo*. Si el potencial acaricida y antihelmíntico de *P. alliacea* quiere aplicarse a nivel práctico y de campo, se requiere la realización de estudios *in vivo* que contribuyan al entendimiento de la farmacocinética y farmacodinamia de los extractos y sus compuestos activos en los animales, determinando así la vía de administración, la formulación y dosis más adecuadas que aseguren el efecto acaricida y

antihelmíntico a nivel de campo. Se debe tener en cuenta que los estudios *in vivo* implican la utilización de modelos animales con características homogéneas, son más costosos y se debe contar con instalaciones adecuadas y personal técnico capacitado. También deben considerarse factores como el vehículo y vía de administración, así como las dosis a emplear (Thakur *et al.*, 2011; Liu *et al.*, 2020).

CONCLUSIONES

Las investigaciones realizadas en la FMVZ-UADY sobre la actividad biológica de los extractos de *P. alliacea* han contribuido significativamente al descubrimiento de su potencial acaricida/ixodicida y antihelmíntico. Se ha demostrado que los extractos de *P. alliacea* provocan altos porcentajes de mortalidad en larvas y hembras adultas de *R. microplus* resistentes a ixodicidas, así como disminución de parámetros reproductivos (inhibición de la oviposición e inhibición de la eclosión). Se observó que existe una diferencia en la actividad acaricida relacionada con la parte de la planta y la época de colecta, siendo el extracto proveniente del tallo colectado en época de secas el que mostró mayor efectividad. La actividad acaricida de *P. alliacea* se atribuye a la presencia de los compuestos sulfurados trisulfuro de dibencilo y disulfuro de dibencilo y la sinergia entre los mismos. Los estudios realizados demostraron que los compuestos sulfurados mencionados anteriormente provocan daños histológicos al sistema reproductor de las hembras adultas, afectando el proceso de ovogénesis. Adicionalmente, los extractos de *P. alliacea* demostraron actividad antihelmíntica de amplio espectro, exhibiendo altos porcentajes de inhibición de la eclosión sobre huevos de *A. caninum*, *H. placei* y ciatostómidos. También se observó diferencia en la actividad antihelmíntica dependiendo de la parte de la planta y época de colecta, siendo el extracto del tallo colectado en época de lluvias el que presentó mayor actividad. El efecto de *P. alliacea* sobre los huevos de los NGI evaluado fue actividad ovicida. Por lo anteriormente mencionado, los extractos de *P. alliacea* son una potencial alternativa de control contra la garrapata *R. microplus* y NGI del orden Strongylida de animales domésticos.

Agradecimientos

Los autores agradecen a CONACYT el apoyo financiero para la realización del presente trabajo (clave CB-2012-01-178216). De igual manera, Flota-Burgos G.J. agradece al CONACYT por la beca otorgada para la realización de sus estudios de doctorado.

Financiamiento. Proyecto “Evaluación de la actividad acaricida de plantas contra *Rhipicephalus microplus* resistentes a ixodicidas” de CONACYT ciencia básica, clave CB-2012-01-178216.

Conflicto de intereses. Los autores declaran que no existe conflicto de intereses en la realización del presente artículo de revisión.

Cumplimiento de estándares de ética. No aplica.

Disponibilidad de datos. No aplica.

REFERENCIAS

- Alegría-López, M.A., Rodríguez-Vivas, R.I., Torres-Acosta, J.F.J., Ojeda-Chi, M.M. and Rosado-Aguilar, J.A., 2015. Use of ivermectin as endoparasiticides in tropical cattle herds generates resistance in gastrointestinal nematodes and the tick *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). *Journal of Medical Entomology*, 52(2), pp. 214-221. DOI 10.1093/jme/tju025
- Alonso, J., 2007. Tratado de fitofármacos y nutracéuticos. 2ª edición. Rosario, Argentina. Corpus Editoria y Distribuidora.
- Arceo-Medina, G.N., Rosado-Aguilar, J.A., Rodríguez-Vivas, R.I. and Borges-Argaez, R., 2016. Synergistic action of fatty acids, sulphides and stilbene against acaricide-resistant *Rhipicephalus microplus* ticks. *Veterinary Parasitology*, 228, pp. 121-125. DOI 10.1016/j.vetpar.2016.08.023.
- Arceo-Medina, G.N., Rosado-Aguilar, J.A., Rodríguez-Vivas, R.I., Méndez-González, M., Borges-Argaez, R., Cáceres-Farfán, M. and Tamayo-Díaz, M., 2017. Effect of season and sampling location on acaricidal activity of *Petiveria alliacea* on larvae of *Rhipicephalus microplus* resistant to acaricides. *Journal of Veterinary Medicine and Allied Science*, 1, pp. 1-22. URL <https://www.alliedacademies.org/abstract/effect-of-season-and-sampling-location-on-acaricidal-activity-of-petiveria-alliacea-on-larvae-of-rhipicephalus-microplus-resistant-7095.html>
- Arceo-Medina, G.N., Rosado-Aguilar, J.A., Rodríguez-Vivas, R.I., Borges-Argaez, R. and Barrero-Pool, F., 2020. Evaluation of the effect of the combination of Dibenzyl disulfide, Dibenzyl trisulfide and octadecenoic acid methyl ester on the process of ovogenesis in acaricide-resistance *Rhipicephalus microplus*. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 23(1), pp. 1-11. URL <http://www.revista.ccba.uady.mx/urn:ISSN:1870-0462-tsaes.v23i1.2958>

- Arjona-Cambranes, K.A., Rosado-Aguilar, J.A., Rodríguez-Vivas, R.I., Ortega-Pacheco, A. y Flota-Burgos, G.J., 2016. Actividad antihelmíntica in vitro de extractos vegetales contra huevos de *Ancylostoma* spp. de perros. *Ciencia y Agricultura*, 13(2), pp. 76.
- Anese, S., Umeda Grisi, P., Jatobá, L.J., Imatomi, M., de Cassia Pereira, V. and Juliano Gualtieri, S.N., 2014. Seasonal variation in phytotoxicity of *Drimys brasiliensis* Miers. *Idesia*, 32(3), pp. 109-116. DOI <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-34292014000300014>
- Barbosa, C.D.A.S., Borges, L.M., Braz L.C.C., Lopes R.T. Miguita, C.H., De Sabóia-Morais T., Garcez, W.S. and Garcez, F.R., 2016. In vitro activity of 3 β -O-tigloyl melianol from *Guarea kunthiana* A. Juss (Meliaceae) on oogenesis and ecdysis of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini) (Acari: Ixodidae). *Experimental Parasitology*, 164, pp. 5-11. DOI 10.1016/j.exppara.2016.01.015
- Bellaw, J.L., Krebs, K., Reinemeyer, C.R., Norris, J.K., Scare, J.A., Pagano, S. and Nielsen, M.K., 2018. Anthelmintic therapy of equine cyathostomin nematodes—larvicidal efficacy, egg reappearance period, and drug resistance. *International Journal for Parasitology*, 48(2), pp. 97-105. DOI 10.1016/j.ijpara.2017.08.009
- Benevides, P.J., Young, M.C., Giesbrecht, A.M., Roque, N.F. and Bolzani, V.S., 2001. Antifungal polysulphides from *Petiveria alliacea* L. *Phytochemistry*, 57, pp. 743-747. DOI 10.1016/s0031-9422(01)00079-6.
- Booth, T.F., Beadle, D.J. and Hart, R.J., 1986. The effects of precocene treatment on egg wax production in Gené's organ and egg viability in the cattle tick *Boophilus microplus* (Acarina Ixodidae): an ultrastructural study. *Experimental and Applied Acarology*, 2, pp. 187-198. DOI 10.1007/BF01213761
- Bowman, D.D., 2009. *Georgis' Parasitology for Veterinarians*. 9th Edition. Philadelphia. Ed. Saunders-Elsevier.
- Bryant, J.P. and Julkunen, T.R., 1995. Ontogenic development of chemical defense by seedling resin birch: energy cost of defense production. *Journal of Chemical Ecology*, 21(7), pp. 883-896. DOI 10.1007/BF02033796.
- Canever, R., Braga, P., Boeckh, A., Grycajuck, M., Bier, D. and Molento, M., 2013. Lack of *Cyathostomin* sp. reduction after anthelmintic treatment in horses in Brazil. *Veterinary Parasitology*, 194, pp. 35-39. DOI <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.12.020>
- Castelo, A.V.M., Del Menezzi, C.H.S. and Resck, I.S., 2012. Seasonal Variation in the Yield and the Chemical Composition of Essential Oils from Two Brazilian Native Arbustive Species. *Journal of Applied Sciences*, 12(8), pp. 753-760. DOI 10.3923/jas.2012.753.760
- Chagas, A.C., 2015. Medicinal plant extracts and nematode control. *CABI Reviews*, 10(8), pp.1-8. URL <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=GB2018800751>
- Chaparro, J.J., Villar, D., Zapata, J.D., López, S., Howell, S., López, A. and Storey, B.E., 2017. Multi-drug resistant *Haemonchus contortus* in a sheep flock in Antioquia, Colombia. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 10, pp. 29-34. DOI <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2017.07.005>
- Chaves, N., Sosa, T. and Escudero, J.C., 2001. Plant growth inhibiting flavonoids in exudate of *Cistus ladanifer* and in associated soils. *Journal of Chemical Ecology*, 27(3), pp. 623-631. DOI 10.1023/a:1010388905923.
- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad., 2009. *Petiveria alliacea* L. <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/phytolaccaceae/petiveria-alliacea/fichas/ficha.htm>. Fecha de consulta: 22 de junio de 2021.
- Cordero del Campillo, M., Rojo, F.A., Martínez, A.R., Sánchez, M.C., Hernández, S., Navarrete, I., Diez, P., Quiroz H. y Carvalho, M., 1999. *Parasitología Veterinaria*. 1ª edición. Madrid, España. Ed. McGraw-Hill-Interamericana.
- Correa, J. y Bernal, H., 1990. *Especies vegetales promisorias de los países del convenio Andrés Bello*. 1ª Edición. Bogotá, Colombia. Secretaría Ejecutiva del Convenio de Andrés Bello, 1989-1998.
- D'Angelo, F., Pone', J.W., Yondo, J., Komtangi, M.C., Vittori, S. and Mbida, M., 2014. Evaluation of ovicidal and larvicidal activities of methylene chloride extract of *Annona senegalensis* (Annonaceae) stem bark on *Heligmosomoides bakeri* (Nematoda, Heligmosomatidae). *Global Journal of Science Frontier Research*, 14, pp. 21-39. URL <https://globaljournals.org/item/3067-evaluation-of-ovicidal-and-larvicidal-activities-of-methylene-chloride-methanol-extract-of-annona-senegalensis-annonaceae->

- stem-bark-on-heligmosomoides-bakeri-nematoda-heligmosomatidae
- Delle Monache, F. and Cuca Suarez, L.E., 1992. 6-C-formyl and 6-C-hydroxymethyl flavanones from *Petiveria alliacea*. *Phytochemistry*, 31, pp. 2481-2482. DOI [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(92\)83304-H](https://doi.org/10.1016/0031-9422(92)83304-H)
- Denardi, S.E., Bechara, G.H., Oliveira, P.R. and Camargo-Mathias I., 2011. Inhibitory action of neem aqueous extract (*Azadirachta indica* A. Juss) on the vitellogenesis of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) ticks. *Microscopy Research and Technique*, 74(10), pp. 889-899. DOI 10.1002/jemt.20973
- Flota-Burgos, G.J., Rosado-Aguilar, J.A., Rodríguez-Vivas, R.I. and Arjona-Cambranes, K.A., 2017. Anthelmintic activity of methanol extracts of *Diospyros anisandra* and *Petiveria alliacea* on cyathostomin (Nematoda: Cyathostominae) larval development and egg hatching. *Veterinary Parasitology*, 248, pp. 74-79. DOI 10.1016/j.vetpar.2017.10.016
- Flota-Burgos, G.J., Rosado-Aguilar, J.A., Rodríguez-Vivas, R.I., Borges-Argaez, R., Gamboa-Angulo, M.M. and Martínez-Ortiz-de-Montellano, C., 2020. Anthelmintic activity of *Petiveria alliacea*, *Bursera simaruba* and *Casearia corymbosa* collected in two seasons on *Ancylostoma caninum*, *Haemonchus placei* and cyathostomins. *Acta Scientifica Veterinary Sciences*, 2(12), pp. 12-24. URL <https://actascientific.com/ASVS/pdf/ASVS-02-0113.pdf>
- Guedes, R.C., Nogueira, N.G., Fusco-Almeida, A.M., Souza, C.R. and Oliveira, W.P., 2009. Atividade antimicrobiana de extratos brutos de *Petiveria alliacea* L. *Latin American Journal of Pharmacy*, 28, pp. 520-524. URL http://www.latamjpharm.org/trabajos/28/4/LAJOP_28_4_1_7_AIT6W1N9TT.pdf
- Hummelbrunner, L.A. and Isman, M.B., 2001. Acute, sublethal, antifeedant, and synergistic effects of monoterpenoid essential oil compounds on the tobacco cutworm *Spodoptera litura* (Lep. Noctuidae). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 49, pp. 715-720. DOI 10.1021/jf000749t
- Jain, C., Khatana, S. and Vijayvergia, R., 2019. Bioactivity of secondary metabolites of various plants: a review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 10(2), pp. 494-504. DOI 10.13040/IJPSR.0975-8232.10(2).494-04
- Kitchen, S., Ratnappan, R., Han, S., Leasure, C., Grill, E., Iqbal, Z., Granger, O., O'Halloran, D.M. and Hawdon, J.M., 2019. Isolation and characterization of a naturally occurring multidrug-resistance strain of the canine hookworm, *Ancylostoma caninum*. *International Journal for Parasitology*, 49, pp. 397-406. DOI 10.1016/j.ijpara.2018.12.004
- Kopp, S.R., Coleman, G.T., McCarthy, J.S. and Kotze, A.C., 2008. Application of in vitro anthelmintic sensitivity assays to canine parasitology: Detection resistance to pyrantel in *Ancylostoma caninum*. *Veterinary Parasitology*, 152, pp. 284-293. DOI 10.1016/j.vetpar.2007.12.020
- Liang, Q., Wei, G., Chen, J., Wang, Y. and Huang, H., 2012. Variation of medicinal components in a unique geographical accession of horny goat weed *Epimedium sagittatum* Maxim. (Berberidaceae). *Molecules*, 17(3), pp. 13345-13356. DOI 10.3390/molecules171113345
- Liu, M., Panda, S.K. and Luyten, W., 2020. Plant-based natural products for the discovery and development of novel anthelmintics against nematodes. *Biomolecules*, 10 (426), pp. 1-22. DOI: 10.3390/biom10030426
- Lopes-Martins, R.A.B., Pegoraro, D.H., Woisky, R., Penna, S.C. and Sertié, J.A.A., 2002. The anti-inflammatory and analgesic effects of a crude extract of *Petiveria alliacea* L. (Phytolaccaceae). *Phytomedicine*, 9(3), pp. 245-248. DOI 10.1078/0944-7113-00118
- Lyndon, J., Lawrence, A.D. and Earle, V.R., 1997. An insecticidal and acaricidal polysulfide metabolite from the roots of *Petiveria alliacea*. *Journal of Pest Science*, 50, pp. 228-232. DOI [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9063\(199707\)50:3<228::AID-PS575>3.0.CO;2-J](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9063(199707)50:3<228::AID-PS575>3.0.CO;2-J)
- Mediouni Ben Jemâa, J., Haouel, S., Bouaziz, M. and Khouja, M.L., 2012. Seasonal variations in chemical composition and fumigant activity of five Eucalyptus essential oils against three moth pests of stored dates in Tunisia. *Journal of Stored Products Research*, 48, pp. 61-67. DOI <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2011.10.001>
- Modak, B., Torres, R. and Urzúa, A., 2011. Seasonal variation of the flavonoids pinocembrin and 3-o-methylgalangin, in the surface component mixture (resinous exudates and waxy coating) *Ofheliotropium Stenophyllum*.

- Journal of the Chilean Chemical Society*, 56, pp. 532-534. DOI <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-97072011000100002>
- Morariu, S., Mederle, N., Badea, C., Dărăbuș, G., Ferrari, N. and Genchi, C., 2016. The prevalence, abundance and distribution of cyathostomins (small stongyles) in horses from Western Romania. *Veterinary Parasitology*, 223, pp. 205-209. DOI 10.1016/j.vetpar.2016.04.021
- Mulyani, Y., Sukmawati, I.K. and Sodik, J.J., 2018. Antimicrobial activities and mechanism of action of *Petiveria alliacea* stem extract. *Indonesian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 1(1), pp. 45-55. DOI <https://doi.org/10.32734/idjpcr.v1i1.209>
- Newmann, D. and Cragg, G.M., 2016. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. *Journal of Natural Products*, 79(3), pp. 629-661. DOI <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.5b01055>
- Nixon, S.A., Welz, C., Wood, D.J., Costa-Junior, L., Zamanian, M. and Martin, R.J., 2020. Where are all the anthelmintics? Challenges and opportunities on the path to new anthelmintics. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, 14, pp. 8-16. DOI <https://doi.org/10.1016/j.ijpddr.2020.07.001>
- Ojeda-Chi, M.M., Rodríguez-Vivas, R.I., Esteve-Gasent, M.D., Pérez de León, A.A., Modarelli, J.J. and Villegas-Pérez, S.L., 2019. Ticks infesting dogs in rural communities of Yucatan, Mexico and molecular diagnosis of rickettsial infection. *Transboundary and Emerging Diseases*, 66, pp. 102-110. DOI 10.1111/tbed.12990
- Pérez de León, A.A., Mitchell, R.D. and Watson, D.W., 2020. Ectoparasites of cattle. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 36, pp. 173-185. DOI 10.1016/j.cvfa.2019.12.004
- Rajesh, A., Doss, A., Tresina, P.S. and Mohan, V.R., 2019. *In-vitro* anticancer activity of few plant extracts against MCF-7, MDA-MB 468 and MDA-MB 231 cell lines. *The Pharma Innovation*, 8(3), pp. 38-41. URL <https://www.thepharmajournal.com/archives/2019/vol8issue3/PartA/8-1-127-553.pdf>
- Rodríguez-Vivas R.I., Grisi, L., Pérez de León, A.A., Silva Villela, H., Torres-Acosta, J.F.J., Fragoso Sánchez H., Romero Salas, D., Rosario Cruz, R., Saldierna, F. and García Carrasco, D., 2017. Potential economic impact assessment for cattle parasites in Mexico. Review. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 8(1), pp. 61-74. DOI <http://dx.doi.org/10.22319/rmcp.v8i1.4305>
- Rosado-Aguilar, J.A., Aguilar-Caballero, A.J., Rodríguez-Vivas, R.I., Borges-Argaez, R., García-Vázquez, Z. and Méndez-González, M., 2010a. Screening of the acaricidal efficacy of phytochemical extracts on the cattle tick *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* (Acari: ixodidae) by larval immersion test. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 12, pp. 417-422. URL <http://www.revista.ccba.uady.mx/urn:ISSN:1870-0462-tsaes.v12i2.358>
- Rosado-Aguilar, J.A., Aguilar-Caballero, A., Rodríguez-Vivas, R.I., Borges-Argaez, R., Garcia-Vazquez, Z. and Mendez-Gonzalez, M., 2010b. Acaricidal activity of extracts from *Petiveria alliacea* (Phytolaccaceae) against the cattle tick, *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* (Acari: ixodidae). *Veterinary Parasitology*, 168, pp. 299-303. DOI 10.1016/j.vetpar.2009.11.022
- Rosado-Aguilar, J.A., Arjona-Cambranes, K., Flota-Burgos, G.J. y Rodríguez-Vivas, R.I., 2016. Actividad antihelmíntica de extractos metanólicos contra huevos del orden Strongylida de bovinos. IV Seminario Internacional y V Nacional de Investigadores en Salud y Producción animal SENISPA. 11, 12 y 13 Octubre. Tunja, Colombia.
- Rösner, H., Williams, L.A.D., Jung, A. and Kraus, W., 2001. Disassembly of microtubules and inhibition of neurite outgrowth, neuroblastoma cell proliferation, and MAP kinase tyrosine dephosphorylation by dibenzyl trisulphide. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1540(2), pp. 166-177. DOI 10.1016/s0167-4889(01)00129-x
- Santacoloma, V.L. y Granados, E., 2010. Evaluación del contenido de metabolitos secundarios en dos especies de plantas forrajeras encontradas en dos pisos térmicos de Colombia. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 1(1), pp. 31-35. DOI 10.22490/21456453.890
- Sariego-Frómata, S., Marín-Morán, J.E., Ochoa-Pacheco, A. and Viera-Tamayo, Y., 2013. *Petiveria alliacea* L.: distintas condiciones experimentales en la elaboración de extractos con actividad antimicrobiana. *Química Viva*, 3, pp. 274-287. URL <https://www.redalyc.org/pdf/863/86329278008.pdf>

- Silva, J.P., do Nascimento, S.C., Okabe, D.H., Pinto, A.C., de Oliverira, F.R., da Paixão, T.P., Siqueira, M.L., Baetas, A.C. and de Andrade, M., 2018. Antimicrobial and anticancer potential of *Petiveria alliacea* L. (Herb to “Tame the Master”): A review. *Pharmacognosy Reviews*, 12, pp. 85-93. DOI 10.4103/phrev.phrev_50_17
- Sousa, L.A.D., Lopes-Rocha, T., Sabóia-Morais, M.T. and Ferreira Borges, L.M., 2013. Ovary histology and quantification of hemolymph proteins of *Rhipicephalus* (Boophilus) *microplus* treated with *Melia azedarach*. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 22, pp. 339-345. URL <https://www.redalyc.org/pdf/3978/397841489003.pdf>
- Thakur, R., Jain, N., Pathak, R. and Sandhu, S.S., 2011. Practices in wound healing studies of plants. *Evidence- Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011, pp. 1-17. DOI: 10.1155/2011/438056
- Vargas-Magaña, J.J., Torres-Acosta, J.F.J., Aguilar-Caballero, A.J., Sandoval-Castro, C.A., Hoste, H. and Chan-Pérez, J.I., 2014. Anthelmintic activity of acetone:water extracts against *Haemonchus contortus* eggs: interactions between tannins and other plant secondary compounds. *Veterinary Parasitology*, 206, pp. 322-327. DOI 10.1016/j.vetpar.2014.10.008