



Universidad Autónoma del Estado de México
Centro Universitario UAEM Temascaltepec

Doctorado en Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales

Bondades nutraceuticas de las vainas de *Acacia farnesiana* en ovinos: nutrición,
parasitismo y calidad de carne

Tesis

Que para obtener el grado de Doctor en Ciencias Agropecuarias y Recursos
Naturales

Presenta

M. en CARN. Miguel Ángel Zarza Albarrán

Temascaltepec Estado de México, noviembre de 2022



Universidad Autónoma del Estado de México
Centro Universitario UAEM Temascaltepec

Doctorado en Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales

Bondades nutraceuticas de las vainas de *Acacia farnesiana* en ovinos: nutrición,
parasitismo y calidad de carne

Tesis

Que para obtener el grado de doctor en Ciencias Agropecuarias y Recursos
Naturales

Presenta

M. en CARN. Miguel Ángel Zarza Albarrán

Tutor académico:

Dr. En C. Rolando Rojo Rubio

Tutores adjuntos:

Dr. En CARN. Agustín Olmedo Juárez

Dr. En CARN. Jaime Mondragón Ancelmo

Temascaltepec Estado de México, noviembre de 2022.

Resumen

Se realizaron dos experimentos para evaluar las bondades nutraceuticas de la harina de frutos de *Acacia farnesiana* (L.) Willd. En el primer experimento se evaluó el efecto de la inclusión de diferentes niveles de harina de frutos de *A. farnesiana* (HFAf) en dietas para ovinos sobre los parámetros productivos, características morfométricas y calidad de la carne. Se utilizaron 32 ovinos (Katahdin x Charollais) con peso vivo inicial de 20 ± 2.5 kg y edad de 70 ± 15 d. Los tratamientos fueron: T0=0.0, T1=1.5, T2=3.0 y T3=4.5 % BS de HFAf. Se evaluó la etapa de crecimiento la cual tuvo una duración de 21 días, así mismo, se evaluó la etapa de finalización, con una duración de 49 días. Los parámetros productivos fueron: el peso vivo inicial y final (PVI y PVF), consumo de materia seca (CMS), ganancia diaria y total de peso (GDP y GTP) y eficiencia alimenticia (EA). En el día 70, los animales fueron sacrificados para determinar las características de la canal (CCa), medidas morfométricas de la canal (MMCa), peso de cortes primarios (PCPr), de vísceras (PVi), y parámetros de calidad de la carne (CCr). La adición de HFAf no afectó el CMS, tuvo efecto positivo sobre la GDP y GTP en la etapa de crecimiento ($P < 0.05$). Durante la finalización no se encontraron diferencias ($P > 0.05$) en las variables productivas. Los PCPr resultaron diferentes ($P < 0.05$) entre sí, T1 y T3 registraron los mayores pesos en lomo y cuello, respectivamente. La CCr, mostraron diferencias significativas ($P > 0.05$) sobre la fuerza de corte y capacidad de retención de agua a las 24 y 72 h. En el T1 se observó mejor ternura en la carne y en el T3 se observó una mayor pérdida de agua y mayor fuerza al corte. Las HFAf mejora la ganancia de peso y el rendimiento de los cortes primarios, por tanto, puede incluirse en dietas para ovinos en crecimiento y finalización bajo condiciones de corral.

El segundo experimento se realizó para evaluar el efecto antiparasitario de las vainas de *A. farnesiana*. La actividad antihelmíntica se evaluó mediante el ensayo de inhibición de la eclosión de huevos (IEH) y las pruebas de mortalidad larvaria. Se utilizó un extracto hidroalcohólico integro (EHA) en concentraciones de 12.5, 25.0, 50.0 mg/mL, una fracción acuosa (F-Aq) en concentraciones de 3.25, 6.25, 12.5 y 25 mg/mL y una fracción de acetato de etilo (F-AE) a razón de 3.12, 6.25, 12.5 y 25 mg/mL, evaluados en la primera fase de selección. La purificación de compuestos se realizó mediante la separación cromatográfica de la fracción orgánica, dando como resultado nueve mezclas menos complejas (C1F1, C1F2, C1F3, C1F4, C2F1, C2F2, C2F3, C2F4 y C2F5) que se evaluaron en concentraciones de 0.62, 1.25, 2.5 y 5 mg/mL. Además, se utilizaron como controles positivos tiabendazol (0,6 mg/mL) e ivermectina (5 mg/mL). Asimismo, se utilizaron como controles negativos agua destilada y metanol al 4%. Los compuestos bioactivos de F-AE se obtuvieron y caracterizaron a través de procesos cromatográficos como cromatografía en columna

abierta, cromatografía en capa fina (TLC), cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), cromatografía líquida de ultra resolución (UPLC) y cromatografía de gases-detección de masas (GC-MS). Los compuestos bioactivos se identificaron mediante espectroscopia (^1H y ^{13}C NMR) y análisis espectrométrico de masas. Además, los huevos de *H. contortus* y las larvas infectantes expuestas a los compuestos bioactivos se observaron mediante microscopía electrónica de barrido ambiental (ESEM) y microscopía de barrido láser confocal (CLSM). Los datos se analizaron con base en un diseño completamente al azar utilizando ANOVA a través de un modelo general lineal. La F-AE mostró actividad ovicida y larvicida cercana al 100 % a 3,12 y 6,25 mg/mL, respectivamente. Los tratamientos C1F2, C1F3 y C2F3 mostraron la principal actividad ovicida (80-100%) a 2,5 mg/mL. Los principales compuestos encontrados en estas subfracciones se identificaron como derivados de galoilo y flavanonas, incluidos ácido gálico (1), galato de metilo (2), galato de etilo (3), naringina (4), naringenina 7-O-(4", 6"- digaloilglucósido) (5), naringenina 7-O-(6"-galoilglucósido) (6) y naringenina (7). Asimismo, las imágenes ESEM y CLSM mostraron que los compuestos evaluados se adhirieron a la cáscara del huevo y la cutícula externa de las larvas.

El fraccionamiento químico biodirigido de la fracción orgánica del extracto de vainas de *A. farnesiana* contra huevos y larvas infectantes de *H. contortus* permitió identificar la naringenina 7-O-(6"-galoilglucósido) (grupo flavonol) como el compuesto responsable de la actividad antihelmíntica contra *H. contortus*. Estos resultados indican que las vainas de *A. farnesiana* contienen compuestos nematocidas y podrían ser agentes antihelmínticos naturales prometedores contra *H. contortus*. En conclusión, los frutos de *A. farnesiana* poseen un alto valor nutracéutico, atribuidos a su contenido de compuestos primarios (proteína y carbohidratos) y compuestos secundarios bioactivos presentes que pueden mejorar la salud y el bienestar de los ovinos por sus efectos antiparasitarios en contra del parásito *H. contortus*; así como mejorar la productividad y las características de los productos cárnicos que de esta actividad se derivan. Por lo tanto, de acuerdo a los resultados obtenidos en este trabajo los frutos de *A. farnesiana* constituyen un ingrediente importante a considerar en las dietas de pequeños rumiantes especialmente los ovinos y podría ser utilizada como fuente de alimento nutracéutico para el control de nematodos gastrointestinales.

Palabras clave: harina de los frutos de *Acacia farnesiana*, ovinos, respuesta productiva, actividad antihelmíntica, *Haemonchus contortus*.

Abstract

Two experiments were carried out to evaluate the nutraceutical benefits of fruits of the shrubby legume *Acacia farnesiana* (L.) Willd. In the first experiment, the effect of including different levels of *A. farnesiana* fruit meal (AfFM) in diets for sheep on performance, morphometric characteristics and meat quality were evaluated. Thirty-two sheep (Katahdin x Charollais) with a initial body weight of 20 ± 2.5 kg and an age of 70 ± 15 d were used. The treatments were four levels of AfFM: T0=0.0, T1=1.5, T2=3.0 and T3=4.5 % of DM of AfFM). The growth stage was evaluated, which lasted 21 days, likewise, the finalization stage was evaluated, lasting 49 days. The productive parameters were: initial and final body weight (IBW and FBW), dry matter intake (DMI), daily and total weight gain (DG and TG) and feed efficiency (FE). Over day 70, the animals were slaughtered to determine carcass characteristics (CaC), morphometric measurements (MMCa), weight of primary cuts (WPCu), of viscera (WVi), and meat quality parameters (MQ). The addition of AfFM did not affect DMI, but it had a positive effect on DG and TG in the growth stage ($P < 0.05$). During finishing, no differences were found ($P > 0.05$) in animal performance. The WPCu were different ($P < 0.05$) from each other, T1 and T3 recorded the highest weights in loin and neck, respectively. The MQ showed significant differences in shear strength and water retention capacity at 24 and 72 h. In T1, better tenderness was observed in the meat and in T3, a greater loss of water and greater cutting force were observed. It is concluded that AfFM improves weight gain and yield of primary cuts, therefore, it can be included in diets for growing and finishing sheep under pen conditions.

The second experiment was carried out to evaluate the antiparasitic effect of the pods of *A. farnesiana*. Anthelmintic activity was evaluated by egg hatching inhibition assay (EHI) and larval mortality tests. A complete hydroalcoholic extract (HA-E) was used at concentrations of 12.5, 25.0, 50.0 mg/mL, an aqueous fraction (Aq-F) at concentrations of 3.25, 6.25, 12.5 y 25 mg/mL, and an ethyl acetate fraction (EtOAc-F) at a rate of 3.12, 6.25, 12.5 y 25 mg/mL, evaluated in the first selection phase. Compound purification by chromatographic separation of the organic fraction resulted in nine less complex mixtures (C1F1, C1F2, C1F3, C1F4, C2F1, C2F2, C2F3, C2F4, and C2F5) that were evaluated at concentrations of 0.62, 1.25, 2.5 y 5 mg/mL. In addition, thiabendazole (0.6 mg/mL) and ivermectin (5 mg/mL) were used as positive controls. Likewise, distilled water and 4% methanol were used as negative controls. The bioactive compounds of EtOAc-F were obtained and characterized through chromatographic processes such as open column chromatography, thin layer chromatography (TLC), high performance liquid chromatography (HPLC), ultra performance liquid chromatography (UPLC) and liquid chromatography. gas-mass detection (GC-MS). Bioactive compounds were identified by spectroscopy (^1H and ^{13}C NMR) and mass spectrometric

analysis. In addition, *H. contortus* eggs and infective larvae exposed to the bioactive compounds were observed using environmental scanning electron microscopy (ESEM) and confocal laser scanning microscopy (CLSM). Data were analyzed based on a completely randomized design using ANOVA through a general linear model. According to the results of this experiment, the EtOAc fraction showed ovicidal and larvicidal activity close to 100% at 3.12 and 6.25 mg/mL, respectively. The C1F2, C1F3 and C2F3 treatments showed the main ovicidal activity (80-100%) at 2.5 mg/mL. The main compounds found in these subfractions were identified as galloyl derivatives and flavanones, including gallic acid (1), methyl gallate (2), ethyl gallate (3), naringin (4), naringenin 7-O-(4", 6"-digalloylglucoside) (5), naringenin 7-O-(6"-galloylglucoside) (6), and naringenin (7). Likewise, the ESEM and CLSM images showed that the evaluated compounds adhered to the eggshell and the external cuticle of the larvae. Bioguided chemical fractionation of the organic fraction of *A. farnesiana* pod extract against infective *H. contortus* eggs and larvae identified naringenin 7-O-(6"-galloylglucoside) (flavonol group) as the compound responsible for the activity anthelmintic against this important parasitic nematode. These results indicate that *A. farnesiana* pods contain nematicidal compounds and could be promising natural anthelmintic agents against *H. contortus*.

In conclusion, the *A. farnesiana* fruits meal have a high nutraceutical value, attributed to their primary compounds as protein and carbohydrates. The bioactive secondary compounds in AfFM could be improving the health and well-being of sheep due to their antiparasitic effects against the *H. contortus* parasite; as well as improving the productivity and characteristics of the meat products derived from this activity. Therefore, according to the results obtained in this work, the *A. farnesiana* fruits meal constitute an important ingredient to consider in the diets of small ruminants, especially sheep, and could be used as a source of nutraceutical food for the control of gastrointestinal nematodes.

Key words: *Acacia farnesiana* fruits meal, sheep, performance, anthelmintic activity, *Haemonchus contortus*

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por la beca que me otorgó para la realización de mis estudios doctorales.

A la Universidad Autónoma del Estado de México, por brindarme la oportunidad de formar parte de una generación más de esta gran institución. De manera particular a la Secretaria de Investigación y Estudios Avanzados (SIEA) por darme la oportunidad de participar en el proyecto de investigación: Desarrollo de tres productos nutraceuticos elaborados a base de las leguminosas *Acacia cochliacantha*, *Caesalpinia coriaria* y *Acacia farnesiana* para un control de la nematodiasis sustentable y aumento de la productividad de ovinos y caprinos, para producir carne inocua **(4585/2018/CIP)**

Al departamento de Helminología del Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad (CENID-SAI), del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) por brindarme las facilidades para realizar parte de esta investigación en sus laboratorios.

A la Estación Experimental Indio Hatuey, Matanzas, Cuba, por brindarme sus instalaciones para fortalecer mis conocimientos y por la gran hospitalidad durante mi estancia de investigación.

Al Dr. Rolando Rojo Rubio, por el gran apoyo y asesoría que me brindo para la realización de mis estudios doctorales y a todos sus conocimientos compartidos, de antemano muchas gracias.

Al Dr. Agustín Olmedo Juárez, por formar parte esencial de este trabajo, por su asesoría, apoyo y amistad, muchas gracias.

Al Dr. Jaime Mondragón Ancelmo, por su asesoría y apoyo incondicional para la realización de este trabajo, muchas gracias.

Al Dr. Alejandro Zamilpa, por el apoyo en la realización de los análisis fitoquímicos y aporte valioso para alcanzar este objetivo.

Al Mcs. Daniel Tapia Maruri, por el apoyo incondicional para la realización de los análisis por microscopia, muchas gracias.

Al Dr. Javier Arece García, por el gran apoyo y hospitalidad durante mi estancia de investigación en la Estación Experimental Indio Hatuey, así mismo, por todos esos conocimientos compartidos.

Al M. en CARN. Cesar García Hernández, por esa gran amistad y apoyo incondicional y por su participación activa para lograr este objetivo, muchas gracias.

A la IAZ. Verónica Gonzales del Prado, por su participación activa en los trabajos de investigación y por esa gran amistad, muchas gracias.

A todos los alumnos de la Licenciatura de Ingeniero Agrónomo Zootecnista que participaron activamente durante el desarrollo de los trabajos de investigación, muchas gracias.

CONTENIDO

| | | |
|------|--|----|
| I. | INTRODUCCIÓN | 14 |
| II. | REVISIÓN DE LITERATURA | 16 |
| | 2.1. Antecedentes | 16 |
| | 2.2. Nutracéuticos | 17 |
| | 2.3. Fitoquímicos | 18 |
| | 2.3.1. Síntesis y producción..... | 19 |
| | 2.3.2. Clasificación | 19 |
| | 2.3.3. Terpenos o isoprenoides..... | 20 |
| | 2.3.4. Compuestos fenólicos (fenilpropanoides y flavonoides) | 21 |
| | 2.3.5. Compuestos que contienen nitrógeno | 23 |
| | 2.4. Fitoquímicos en la nutrición de rumiantes | 24 |
| | 2.4.1. Fitoquímicos bioactivos que mejoran la nutrición de los rumiantes | 24 |
| | 2.4.2. Mecanismo de acción | 26 |
| | 2.5. Fitoquímicos como mejoradores de las características de la canal y calidad de la carne 30 | |
| | 2.5.1. Mecanismos de acción | 31 |
| | 2.6. Fitoquímicos como alternativa antiparasitaria | 33 |
| | 2.6.1. Mecanismos de acción | 33 |
| | 2.6.2. Resistencia antiparasitaria a los fitoquímicos | 35 |
| | 2.7. Los fitoquímicos como aditivos nutraceuticos para rumiantes | 35 |
| | 2.8. Farmacocinética de los fitoquímicos en rumiantes | 35 |
| | 2.9. Efectos residuales..... | 37 |
| | 2.10. Efectos adversos sobre la salud y bienestar animal..... | 37 |
| | 2.11. Potencial nutraceutico de los recursos forrajeros nativos..... | 38 |
| | 2.12. Productos herbales para rumiantes | 39 |
| | 2.13. Extractos vegetales | 40 |
| | 2.14. Huizache (<i>Acacia farnesiana</i>) L. Willd. | 40 |
| | 2.14.1. Clasificación taxonómica..... | 41 |
| | 2.14.2. Características fisiológicas | 41 |
| | 2.14.3. Usos | 42 |
| | 2.14.4. Composición nutricional | 42 |
| | 2.14.5. Fitoquímicos reportados en <i>A. farnesiana</i> | 43 |
| | 2.14.6. Propiedades bioactivas | 43 |
| III. | JUSTIFICACIÓN | 46 |

| | | |
|--------|---|-----|
| IV. | HIPÓTESIS | 47 |
| V. | OBJETIVOS | 48 |
| VI. | MATERIAL Y MÉTODOS..... | 49 |
| 6.1. | Experimento I..... | 49 |
| | Comportamiento productivo | 49 |
| 6.2. | Experimento II | 52 |
| | Efecto antiparasitario | 52 |
| 6.2.1. | Prueba de Inhibición de la eclosión de huevos (IEH) | 56 |
| 6.2.2. | Prueba de mortalidad larvaria..... | 56 |
| 6.2.3. | Estudio óptico, de barrido laser con focal y microscopia electrónica de barrido ambiental de huevos y larvas infectantes de <i>H. contortus</i> | 57 |
| 6.2.4. | Análisis estadístico | 58 |
| VII. | RESULTADOS | 59 |
| VIII. | DISCUSIÓN GENERAL | 99 |
| 8.1. | Respuesta productiva, características de la canal, y calidad de la carne de ovinos complementados con harina de frutos de Acacia Farnesiana | 99 |
| 8.2. | Características de la canal, cortes primarios y peso de las vísceras | 101 |
| 8.3. | Calidad de la carne | 104 |
| 8.4. | Efecto antiparasitario de los frutos de <i>A. farnesiana</i> sobre <i>H. contortus</i> | 105 |
| IX. | CONCLUSIÓN GENERAL..... | 107 |
| X. | REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 108 |

LISTA DE CUADROS

| | |
|---|----|
| Cuadro 1. Clasificación taxonómica de <i>Acacia farnesiana</i> (L.)Willd. | 37 |
| Cuadro 2. Composición nutricional y concentración de taninos en frutos de <i>Acacia farnesiana</i> (g ¹ kg MS) | 41 |
| Cuadro 3. Dietas para ovinos en crecimiento y finalización adicionadas con diferentes niveles de <i>Acacia farnesiana</i> | 48 |

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Elementos básicos del metabolismo primario y secundario de las plantas. 16

I. INTRODUCCIÓN

Los sistemas de producción ganaderos enfrentan grandes desafíos, por un lado, se debe cumplir con estándares de calidad (Ramírez-Retamal y Morales, 2014), mientras que por otro, se debe producir bajo un uso limitado de medicamentos, productos químicos y promotores de crecimiento, al tiempo que se reduzca el impacto sobre el medio ambiente y considerando siempre el bienestar animal (Durmic y Blache, 2012).

Bajo la creciente necesidad de encontrar alternativas al uso de antibióticos, promotores de crecimiento y productos químicos como los antiparasitarios que se utilizan para promover la salud de los animales, existe interés en los productos nutracéuticos (Mendel et al., 2017), ya que se ha observado que pueden mejorar la productividad y la salud de los animales gracias a sus propiedades bioactivas (Oh, et al., 2017).

Los productos nutracéuticos, son alimentos bioactivos considerados como productos intermedios entre los alimentos tradicionales y la medicina, estos podrían definirse como componentes químicos o biológicos de un alimento o parte de él, que proporciona un beneficio adicional para la salud incluida la prevención y el tratamiento de enfermedades (Scull-Rodríguez et al., 2018). Así pues, la idea de los productos nutracéuticos, es que estos, deben contener cantidades adecuadas de nutrientes esenciales para el mantenimiento de una salud óptima, además de la presencia de sustancias bioactivas que cumplan al igual que los nutrientes esenciales una función de beneficio y contribuyan a reducir la incidencia de ciertas enfermedades (Chasquibol et al., 2003).

En este sentido, México posee regiones ecológicas diversas que albergan una gran variedad de especies arbóreas y arbustivas bien adaptadas que se utilizan como fuente importante de alimento para la ganadería (Palma y Gonzales, 2018; Delgadillo-Puga et al., 2019), el uso de estos recursos puede ser una fuente importante, no solo de forraje, sino también como fuentes medicinales o nutracéuticos (Palma y Gonzales, 2018; Torrez-Fajardo et al., 2020), gracias al valor nutritivo que posee y a la presencia de fitoquímicos bioactivos que al ser consumidos por los animales, pueden generar efectos benéficos, tanto en la nutrición como en la salud de estos (Delgadillo-Puga et al., 2019). Desafortunadamente, estos recursos no se han utilizado plenamente debido a la falta de información sobre su potencial para ser utilizados como nutracéuticos (Torrez-Fajardo et al., 2020). No obstante, existe interés en los fitoquímicos de las plantas para su uso como alternativa natural a los productos químicos sintéticos utilizados en la producción ganadera como promotores de crecimiento y antiparasitarios (Durmic y Blache, 2012; Mendel et al., 2017), ya que pueden ser

útiles para mejorar la productividad y salud de los animales al mostrar efectos bioactivos cuando son consumidos en la dieta (Oh, et al., 2017).

La identificación de las propiedades nutraceuticas entre especies de plantas del bosque bajo caducifolio puede contribuir a la revalorización de este sistema de vegetación nativa y proporcionar información que permita el diseño de sistemas sostenibles de alimentación y manejo del ganado que beneficie la nutrición y la salud de los pequeños rumiantes y en última instancia la salud humana a través del consumo de productos animales producidos bajo el uso de estos recursos (Torrez-Fajardo et al., 2020). Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue determinar el valor nutraceutico de los frutos de *Acacia farnesiana* al ser incluidos en las dietas para ovinos.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Antecedentes

El uso de plantas con propiedades bioactivas tiene sus antecedentes en la herbolaria, esta práctica popular ha empleado las propiedades curativas específicas de las plantas para tratar enfermedades (Leyva et al., 2011), y se ha utilizado como tratamiento de enfermedades humanas durante siglos (Shekhar et al., 2017). Los registros del uso medicinal de plantas se remontan al año 4000 a.c. en las áreas del Éufrates y Tigris y al 3000 a.c. en China, su uso continuo está documentado en el antiguo Egipto y a lo largo de los periodos grecorromanos y medieval en Europa (Durmic y Blanche, 2012).

Las plantas bioactivas todavía se utilizan como parte de las prácticas tradicionales o etnoveterinarias en muchas partes del mundo (Durmic y Blanche, 2012; Piluzza et al., 2015). Esta práctica ha evolucionado con el tiempo, tanto que, a la fecha el comercio mundial de especies vegetales se ha incrementado notablemente debido al incremento del consumo de farmacéuticos de origen vegetal, alrededor del 80 % de la población mundial depende de las plantas para la atención primaria de la salud (Leyva et al., 2011; Gupta et al., 2019). Más de 80,000 especies de plantas son reconocidas por sus propiedades bioactivas, además, se estima que alrededor del 15 % de la flora mundial (37,000 especies) poseen propiedades curativas (Leyva et al., 2011) y su uso veterinario está documentado alrededor del mundo (Piluzza et al., 2015).

México se ubica en cuarto lugar a nivel mundial en flora con 26 000 especies, de las cuales, 9 500 son endémicas y 4 500 se han registrado con propiedades medicinales (Leyva et al., 2011), entre otros ejemplos se encuentran: Italia, donde se han reportado 280 plantas con uso etnoveterinario, mientras que en China se han identificado más de 200 plantas en la producción ganadera y más de 200 plantas con uso etnoveterinario en el sur de África (Durmic y Blanche, 2012).

Aunque las plantas medicinales se han utilizado durante miles de años en algunos sistemas de salud, como el aryuvedico, homeopático, chino, tibetano, egipcio, ruso africano y amazónico, en la actualidad, su uso se ha vuelto popular en todo el mundo gracias a su fácil acceso, asequibilidad y mayor tolerabilidad con un amplio margen de seguridad (Gupta et al., 2019). Gracias a estas propiedades, las plantas medicinales se han convertido en una alternativa importante para el fortalecimiento de la salud en el futuro, debido a que los fitoquímicos tiene la capacidad de curar diversas enfermedades (Shekhar et al., 2017) y son el principal recurso para la atención de la salud y la producción animal en algunos países en desarrollo (Durmic y Blanche, 2012).

2.2. Nutracéuticos

La introducción del término Nutracéutico se dio aproximadamente hace unas tres décadas, cuando el presidente de la fundación para la innovación en medicina de Nueva Jersey, EE.UU. acuñó la palabra uniendo los términos nutrición y farmacéutico. A partir de ese momento se produjo un creciente interés sobre estos productos en diferentes disciplinas científicas, entre ellas la ganadería y veterinaria. No obstante, se carece de una conceptualización unificada de este término especialmente cuando se compara los conceptos de nutracéuticos entre las ciencias humanas y veterinarias (Torres-Fajardo et al., 2020), sin embargo, de acuerdo con el North American Veterinary Nutraceutical Council, los nutracéuticos veterinarios se definen como sustancias no farmacológicas que se administran por vía oral, para proporcionar agentes necesarios para la función normal del cuerpo, con la intención de mejorar la salud y el bienestar de los animales.

Los productos nutracéuticos se encuentran en un lugar intermedio entre los nutrientes de los alimentos y los medicamentos. Estos productos se derivan principalmente de fuentes biológicas como plantas, animales invertebrados, vertebrados, peces y aves; a diferencia de los productos farmacéuticos sintéticos, los nutracéuticos consisten en un conjunto de compuestos bioactivos que interfieren en múltiples objetivos y rutas al mismo tiempo, como resultado, pueden ejercer múltiples actividades, tales como captador de radicales libres y antioxidante; antiinflamatorio, inmunomodulador, sedante, antimicrobiano, entre otros, y un efecto farmacológico. Al tener tales actividades biológicas, los nutracéuticos pueden tener amplias aplicaciones en muchas enfermedades, así mismo, al tener múltiples componentes bioactivos a menudo proporcionan efectos sinérgicos que impiden la generación de resistencia a los medicamentos que en la actualidad es un problema de salud mundial (Gupta et al., 2019).

Al principio los nutracéuticos se usaron con más frecuencia y de manera más generalizada en humanos, sin embargo, la creciente evidencia sobre las relaciones entre los herbívoros, plantas, metabolitos secundarios y nematodos gastrointestinales sirvió de trampolín para la introducción del concepto nutracéutico en las ciencias veterinarias. En la actualidad, el uso de los nutracéuticos es más popular para tratar y prevenir enfermedades en animales que en humanos, gracias a su costo relativamente bajo y seguridad (Torres-Fajardo et al., 2020)

Debido a la situación mundial actual, la industria de los nutracéuticos se enfrenta a muchos desafíos, tal es así que, para muchos de estos productos no hay datos disponibles sobre seguridad y toxicidad debido a la falta de estudios farmacocinéticos, farmacodinámicos, farmacológicos y toxicológicos, si bien, algunos nutracéuticos son reconocidos como seguros, otros representan una amenaza tóxica para la salud humana y animal ya que en muchos casos las afirmaciones

sobre el uso de nutraceuticos son exageradas o afirmadas sin un merito científico solido (Gupta et al., 2019). A diferencia de la medicina moderna, los nutraceuticos no están estrictamente regulados en ningún país, la única regulación importante es la aprobada en 1994 por el congreso de los Estados Unidos, de la ley de educación para la salud de los suplementos dietéticos. Mientras que, en la Unión Europea, las regulaciones actuales requieren evidencia de que los medicamentos a base de plantas cumplan con los estándares aceptables de calidad, seguridad y eficacia antes de que se pueda emitir una licencia de producto, no obstante, diferentes asociaciones como la Asociación americana de medicina veterinaria, el congreso internacional de veterinaria, congreso de la asociación mundial de veterinaria, nutraceuticos europeos, así como diferentes profesionales de la salud y nutrición animal reconocen la importancia de los nutraceuticos para promover la salud y tratamiento de enfermedades en animales (Gupta et al., 2019).

2.3. Fitoquímicos

El metabolismo, es el conjunto de reacciones químicas que se dan en un organismo para sintetizar sustancias complejas a partir de otras más simples, o por el contrario para sintetizar sustancias simples a partir de sustancias complejas, dando como resultado la síntesis de productos como aminoácidos, nucleótidos, azúcares y lípidos, presentes en todas las plantas, a estos compuestos se les denominan metabolitos primarios, los cuales tienen funciones específicas para mantener el correcto funcionamiento de estas (Avalos y Pérez-Urruía, 2009).

Por otro lado, parte del carbono, nitrógeno y energía asimilados se destina a la síntesis de una amplia variedad de moléculas orgánicas que no parecen tener una función básica en los procesos fotosintéticos, respiratorios, asimilación de nutrientes, transporte de solutos, ni síntesis de carbohidratos, proteínas o lípidos, estos se denominan metabolitos secundarios o fitoquímicos (Durmic y Blanche, 2012). La síntesis de estas moléculas son parte de las estrategias de sobrevivencia de las plantas en reacción a los factores ambientales estresantes, ataque de patógenos, plantas competidoras y el ataque de herbívoros (Durmic y Blanche, 2012), además, son compuestos clave que aportan olor, sabor y color a las plantas, lo que hace que estos metabolitos sean tan esenciales como los metabolitos primarios (Verma y Shukla, 2015).

2.3.1. Síntesis y producción

Los metabolitos secundarios o fitoquímicos son producto de las vías metabólicas laterales de la fotosíntesis y su función es proveer protección a la planta contra factores externos (Leyva et al., 2011). El contenido de estos compuestos varía no solo de una especie a otra, sino también dentro de las plantas de la misma especie, ya que el transporte y almacenamiento de estos compuestos en la planta está afectado por diferentes factores, principalmente: 1) genéticos 2) ontogénicos, 3) morfogénicos y 4) factores ambientales, entre los que destacan factores bioquímicos y celulares, además de factores abióticos como temperatura, sequía, salinidad, estacionalidad, altitud, luz, radiación UV, iones metálicos, heridas y deficiencia de nutrientes, así como por los factores bióticos como el ataque de patógenos (Verma y Shukla, 2015). La concentración y acumulación de metabolitos secundarios también se ve afectada a nivel genético ya que los genes implicados en la ruta biosintética están generalmente controlados por varios factores de transcripción, estos factores juegan un factor importante en la regulación de la concentración, acumulación y biosíntesis (Verma y Shukla, 2015).

2.3.2. Clasificación

Basado en su origen biosintético los metabolitos secundarios se dividen en tres grandes grupos: **terpenos o isoprenoides**, **compuestos fenólicos** (fenilpropanoides y flavonoides) y **compuestos que contienen nitrógeno** (Alcaloides, glucosinolatos y glúcidos cianógenicos) (Verma y Shukla, 2015).

Se han identificado aproximadamente 12000 compuestos alcaloides que se sintetizan principalmente a partir de aminoácidos, mientras que los derivados fenólicos son sintetizados a través de la ruta del ácido shikímico o de la vía del malonato/acetato y se han identificado alrededor de 10 000 moléculas y más de 25 000 terpenoides derivados del difosfato de isopentínico (Leyva et al., 2011).

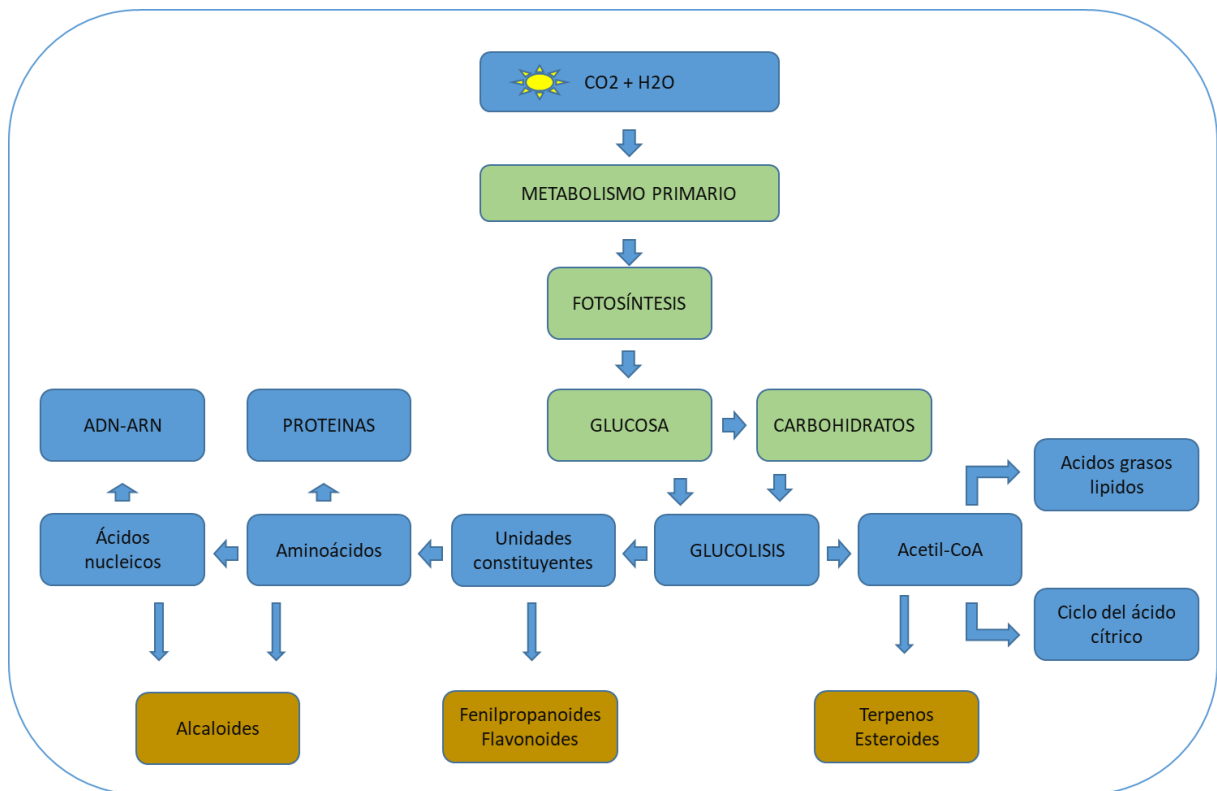


Figura 1. Elementos básicos del metabolismo primario y secundario de las plantas.

2.3.3. Terpenos o isoprenoides

Los terpenos funcionan en las plantas como hormonas o como atrayentes de polinizadores, y en casos más específicos actúan como insecticidas (Pedraza, 2008), generalmente son insolubles en agua y su biosíntesis se da a partir de Acetil CoA, también implica la unión de cinco unidades de isopreno de carbono llamados isoprenoides (Verma y Shucla, 2015). Estos compuestos se sintetizan en las plantas por dos vías diferentes, una ocurre en el citoplasma y la otra, en los plástidos por la vía del mevalonato y del metileritritol 4-fosfato. La vía del metileritritol 4-fosfato ofrece un precursor para la síntesis de mono y diterpenos, isopreno, carotenoides, fitohormonas, giberelinas, ácido abscísico, fitol, la cadena lateral de plastoquinonas, filoquinonas, tocoferoles y clorofilas, mientras que, la vía del mevalonato proporciona isopentenil difosfato y participa en la síntesis de sesquiterpenos, esteroides, brasinoesteroides y polifenoles (Verma y Shucla, 2015).

Estos compuestos se clasifican según las unidades de isopreno en: **monoterpenos** (C10), son las moléculas más representativas que constituyen el 90 % de los aceites esenciales y consisten en varios tipos de compuestos con una gran variedad de radicales funcionales como los carburos, alcoholes (geraniol, limoneno, mentol), aldehídos, cetonas, ésteres, peróxidos y fenoles. **Sesquiterpenos** (C15), tienen una estructura y función similar a los monoterpenos y generalmente

se agrupan juntos. **Diterpenos** (C₂₀), son ácidos que componen resinas de gimnospermas y compuestos como fitol, tocoferol y retinol. **Triterpenos** (C₃₀), estos compuestos son una de la subclase de terpenos más importantes por su amplia distribución en el reino vegetal y sus aplicaciones en farmacología. Los compuestos más importantes en este grupo son los esteroides, las saponinas triterpénicas y los glucosidos cardiacos. **Tetraterpenos** (C₄₀), estos compuestos se componen en carotenoides y xantofilas. **Politerpenos** (C_{>40}), este grupo se pueden encontrar libres o unidos a estructuras quinónicas donde el ejemplo más claro es el caucho que puede alcanzar las 6000 unidades de isopreno repetidas (Bodas et al., 2012).

Algunas plantas tienen terpenos volátiles conocidos como aceites esenciales y glucósidos terpénicos llamados saponinas (Verma y Shukla, 2015), estos terpenos son los de mayor importancia en la alimentación y nutrición de rumiantes (Pedraza, 2008).

Saponinas: son compuestos fitoquímicos que se encuentran en muchos géneros de plantas, tradicionalmente las plantas que contienen saponinas se han utilizado como sustitutos del jabón. Químicamente las saponinas son compuestos de bajo peso molecular y se forman a través de lípidos esteroides o triterpenos unido a una o más cadenas de azúcar (Patra y Sexana, 2009). Las saponinas se clasifican según la naturaleza de su esqueleto de aglicona en saponinas esteroides y saponinas triterpenoides. Las saponinas esteroides; consisten en una aglicona de espirostanos o furostanos que comprende una estructura de seis anillos o pentacíclica. Las saponinas triterpenoides consisten en una aglicona triterpenoide con un esqueleto C₃₀ que comprende una estructura pentacíclica (Mendel et al., 2017).

2.3.4. Compuestos fenólicos (fenilpropanoides y flavonoides)

Estos compuestos, son el segundo grupo principal de metabolitos secundarios en las plantas, y desempeñan muchas funciones fisiológicas incluidas la reproducción, el crecimiento y la defensa contra el estrés biótico o abiótico, pertenecen a los compuestos fenólicos aromáticos y pueden ser solubles o insolubles en agua y solventes orgánicos (Verma y Shukla, 2015). Constituyen un amplio conjunto de sustancias que en su estructura contienen un núcleo bencénico y por lo menos un sustituyente hidroxilo libre o formando parte de una función éster, éter o heterósido. Estos compuestos se pueden clasificar por su origen biosintético en: a) derivados de policétidos o acetogeninas, que incluyen quinona, naftoquinona y antraquinona, se sintetizan a partir de unidades de Acetil-CoA por polimerización y ciclaciones. b) La mayoría de los compuestos fenólicos de las plantas provienen de derivados fenilpropanoides sintetizados a partir de la ruta de síntesis del ácido shiquímico (Bodas et al., 2012). Los compuestos fenólicos se han dividido en

diferentes grupos como ligninas, lignanos, cumarinas, taninos, flavonoides, estibenos, estilpironas y aripironas (Verma y Shukla, 2015).

Lignanos: los lignanos son oligómeros de alto peso molecular que protegen a la planta de patógenos o bien actúan como antioxidantes en flores, semillas, nueces, hojas y raíces.

Cumarinas: Cumarinas, furanocumarinas y estilbencenos, son agentes protectores contra bacterias, hongos y herbívoros, además sirven como inhibidores de la germinación de la semilla.

Taninos: los taninos son un grupo diverso de fenoles de alto peso molecular (Vélez-Terranova et al., 2014) y complejidad variable, se encuentran distribuidos en gran parte de las plantas, especialmente árboles, arbustos y leguminosas herbáceas (Frutos et al., 2004), contienen una gran cantidad de grupos hidroxilos fenólicos que les permite formar complejos con proteínas, iones metálicos, aminoácido y polisacáridos (Mendel et al., 2017). Los taninos se dividen en dos grupos: taninos hidrolizables (TH) y taninos condensados (TC) (Frutos et al., 2004).

Los TH son compuestos derivados del ácido gálico y elálgico esterificados con azúcares (Bodas et al., 2012), con moléculas complejas con un carbohidrato como núcleo central (glucosa, glucitol, ácidos quínico, quercitol, siquímico) los cuales son esterificados parcial o totalmente con un grupo fenólico, como el ácido gálico (3, 4, 5-trihidroxi benzoico; galotaninos) o el ácido gálico dímero hexahydroxydiphenico (elagitaninos) (Frutos et al., 2004).

Los TC o proantocianidinas, son grandes polímeros de moléculas de flavonoides unidas por enlaces covalentes, es decir, unidades flavan-3-ol (epi) catequina y (epi) galocatequina, que están unidos por enlaces interflavonoides C4-C8 y C4-C6, así mismo, también se encuentran presentes otros monómeros, por ejemplo, las profisetinidinas y probinetidinas (Bodas et al., 2012).

En general, los taninos son más abundantes en las partes de la planta que son valiosas para ellas, como hojas y flores nuevas, que presentan más vulnerabilidad a ser consumidas por depredadores, sin embargo, son numerosos los factores ambientales que interfieren en cuanto a su concentración, como el desarrollo fenológico, otros con menor influencia, pero importantes como altas temperaturas, estrés hídrico y mala calidad del suelo (Frutos et al., 2004).

Flavonoides: estos compuestos son una clase de polifenoles que comprenden 15 carbonos con dos anillos aromáticos conectados por un puente de tres carbonos, son los compuestos fenólicos más numerosos que se encuentran en el reino vegetal (Verma y Shukla, 2015; Olagaray y Bradford, 2019), tiene un papel crucial en el crecimiento de las plantas, en el mecanismo de defensa contra microbios e insectos y algunos otros como las antocianidinas actúan en el

desarrollo del color de los pétalos para atraer a los polinizadores (Verma y Shukla, 2015), su síntesis es compleja, con una parte de la molécula sintetizada en la vía del ácido shikímico y otra derivada de los policétidos ácidos (Bodas et al., 2012). Se distinguen varias clases, de acuerdo a su nivel de oxidación en su anillo pirano, la estructura base para algunos es el esqueleto flavano y para otros la estructura 2-fenil- γ -cromona. De acuerdo a los sustituyentes o a la posición del anillo bencénico β del anillo pirano los flavonoides pueden ser: **auronas**, **leucoantocianidinas** (flavan-3,4-diol) (catequina y epicatequina), **favanonas** (hesperetina, taxifolina, eriodictyol y naringenina), **flavonoles**, **flavonas** (luteolina, epigenina, diosmetina, crisoeriol, tangeretina, gardenina, vitexina y baicaleína sinensetina), **flavonoles** (kaempferol, quercetina, galangina, daticetina, morina, robinetina, isorhamnetina, tamarixetina, quercetagetina y miricetina), **antocianidinas** (cianidina, delphinidina, pelargonidina y peonidina), **chalconas o isoflavonoides** (genisteína, daidzeína y cumestrol) (Bodas et al., 2012; Cuchillo et al., 2013). Este grupo de compuestos son considerados bioactivos y poseen efecto antiinflamatorio, antialérgico, antimicrobial, anticancerígeno, regulación de colesterol y la reducción de incidencia de infarto cerebral (Cuchillo et al., 2013), recientemente se ha identificado que tienen efecto como antihelmínticos en rumiantes (Castillo- Mitre et al., 2017).

2.3.5. Compuestos que contienen nitrógeno

La tercera categoría de metabolitos secundarios incluye compuestos que contienen nitrógeno, tales como los alcaloides, glucosinolatos y glucósidos cianogénicos (Verma y Shukla, 2015).

Alcaloides: son compuestos de bajo peso molecular que contienen aminas secundarias, terciarias o cíclicas y por lo menos un átomo de nitrógeno en su estructura lo que le proporciona su basicidad (Leyva et al., 2011). La mayor parte de la ruta de la biosíntesis de los alcaloides inicia con moléculas de aminoácidos como triptófano, tirosina, fenilalanina, lisina y arginina; además, se puede combinar con un esteroide como la secologinina u otro tipo de terpenoide (Bodas et al., 2012). De acuerdo a su precursor genético los alcaloides se dividen en **derivados de ornitina y lisina** que incluyen atropina, nicotina, nornicotina, anabasina y lupinina; **derivados de fenilalanina y tirosina** incluyen tebaína, codeína, morfina, papaverina; y los **derivados del triptófano** que incluyen ajmalicina, vincristina, vinblastina, quinina y estricnina (Bodas et al., 2012). Los usos para este grupo de compuestos incluyen diferentes medicamentos como el fármaco antipalúdico (quinina), la vinblastina para tratar el cáncer y la ajmalina para los trastornos cardiacos; la morfina como analgésico, codeína como supresor de la tos, papaverina como

relajante muscular, sanguinarina y berberina como agentes microbianos, entre otros (Verma y Shukla, 2015).

Muchos compuestos protectores nitrogenados como glusinolatos y glucósidos cianogénicos pueden convertirse en veneno volátil al triturar las plantas que los contienen, los glucósidos cianogénicos liberan cianuro de hidrogeno que es un gas venenoso (Verma y Shukla, 2015). El papel de los alcaloides en las plantas es principalmente de defensa contra patógenos y herbívoros.

2.4. Fitoquímicos en la nutrición de rumiantes

Los compuestos secundarios o fitoquímicos de las plantas fueron considerados durante mucho tiempo como productos antinutricionales, ya que a menudo presentan sabor amargo, lo que disuade a los animales que las consumen o causan aversión ya que interfieren con los procesos metabólicos del huésped (Durmic y Blanche, 2012), sin embargo, la búsqueda de aditivos alimentarios alternativos en la producción ganadera ha estimulado el interés sobre los fitoquímicos, ya que pueden contribuir benéficamente sobre la producción animal cuando se suministran en forma y dosis correcta (Macheboeuf et al., 2008). Estos productos se han utilizado como aditivos alimenticios alternativos para la manipulación de la ecología ruminal con resultados prometedores en la alimentación de rumiantes. Entre algunos de las alternativas se encuentran: el uso de extractos de plantas o plantas que contienen compuestos secundarios, plantas ricas en minerales y aceites esenciales o la implementación de sistemas de alimentación utilizando cultivos comerciales asociados con arbustos leguminosos o arboles forrajeros (Wanapat et al., 2015). El contenido de fitoquímicos en las plantas forma parte de las dietas de los rumiantes, estos compuestos bioactivos pueden modificar la capacidad ruminal, por lo que, son de interés en la nutrición animal (Patra y Saxena, 2009).

2.4.1. Fitoquímicos bioactivos que mejoran la nutrición de los rumiantes

Se denominan fitoquímicos bioactivos a aquellos compuestos que tienen la capacidad de provocar efectos farmacológicos o toxicológicos en humanos y animales (Durmic y Blanche, 2012), estos compuestos son un área de investigación con gran potencial para crear sustitutos de los productos químicos sintéticos utilizados en la nutrición y salud de los rumiantes (Bodas et al., 2012; Vélez-Terranova et al., 2014). Los compuestos bioactivos con uso potencial en la nutrición de rumiantes son algunos terpenos como las saponinas, algunos compuestos fenólicos como los taninos y flavonoides, compuestos organosulfurados y aceites esenciales (Bodas et al., 2012).

Compuestos fenólicos: en general los compuestos fenólicos poseen diferentes efectos bioactivos al ser consumidos por los animales, algunos compuestos como los taninos y flavonoides poseen actividad antioxidante debido a sus propiedades redox que los convierte en donantes de hidrogeno, agentes reductores y desactivadores de oxígeno (Verma y Shucla, 2015). Así mismo, por sus propiedades antimicrobianas podrían ser utilizados para manipular las poblaciones microbianas del rumen para beneficiar la síntesis de proteína microbiana, disminuir la metanogénesis y modificar la producción de ácidos grasos derivados de la biohidrogenación (Morales y Ungerfeld, 2015).

Taninos: este grupo de fitoquímicos específicamente los TC pueden reducir la degradación dietaria de la PC y al mismo tiempo reducir la metanogénesis, al tiempo que pueden incrementar la síntesis de proteína microbiana (Alexander et al., 2008). No obstante, el consumo de especies vegetales con altos contenidos de TC, generalmente mayor a 50 g/kg de materia seca reduce significativamente el consumo voluntario de alimento, mientras que el consumo menor a 50 g/kg puede evidenciar los beneficios ya mencionados (Frutos et al., 2004). Por su parte, el efecto de los TH también se ha reportado variable principalmente dependiendo de la cantidad consumida.

Flavonoides: este grupo de fitoquímicos pueden incrementar la degradación de los constituyentes celulares de las plantas y al igual que las saponinas y TC, aumentan la síntesis de proteína microbiana (Alexander et al., 2008).

Saponinas: el creciente interés en el uso de las saponinas como aditivos fotogénicos para alimentos de rumiantes, resulta de sus numerosas actividades biológicas, como sus propiedades inmunoestimuladoras antiinflamatorias, hepatoprotectoras, antibacterianas, antivirales, antifúngicas, así como, la actividad inhibidora de la producción de metano y por su capacidad para modificar la fermentación ruminal a través de la influencia directa sobre la composición y la actividad de protozoarios, bacterias, y hongos del rumen (Mendel et al., 2017), ya que suprime la población de protozoarios y pueden incrementar las poblaciones de bacterias y hongos, lo que a su vez aumenta el rendimiento y la eficiencia en la síntesis de proteína microbiana (Alexander et al., 2008), además, favorecen la producción de propionato sin afectar la degradación de los sustratos (Vélez-Terranova et al., 2014), lo que mejora las ganancias de peso y la eficiencia alimenticia (Wang et al., 2012).

Aceites esenciales: estos fitoquímicos son compuestos volátiles y complejos que se caracterizan por un olor fuerte, son extraídos de diversas plantas aromáticas y se constituyen de mezclas naturales muy complejas que pueden tener docenas de componentes, sin embargo, son

caracterizados por dos o tres componentes principales en concentraciones que van del 20 al 70 %. Comprenden compuestos de origen terpenoide y no terpenoide sintetizados a través de diferentes rutas biosintéticas y con distintos precursores metabólicos primarios ya sea por la ruta del malevato o sikimato (Mendel et al., 2017). Estos compuestos se han propuesto como moduladores de la fermentación ruminal (Macheboeuf et al., 2008) y pueden producir ganancias de peso similares a los reportados para los promotores de crecimiento en cerdos y pollos (Carro et al., 2014). Así mismo, se incorporan en la alimentación animal para mejorar las características de los alimentos gracias a sus propiedades antioxidantes y antimicrobianas, para mejorar la digestión y el rendimiento en general, así como, para mejorar las características de los productos animales (Mendel et al., 2017).

2.4.2. Mecanismo de acción

El mecanismo de acción de la mayoría de los fitoquímicos como mejoradores de la nutrición de rumiantes no se conoce totalmente y varía de acuerdo a la sustancia de que se trate, estudios, han demostrado que en concentraciones relativamente bajas algunos fitoquímicos tienen la capacidad de modificar favorablemente la fermentación del rumen (Alexander et al., 2008).

Algunos mecanismos de acción que se han identificado son los siguientes:

- 1) *Disminución de la oxidación de los aminoácidos*: la eficiencia de utilización de la proteína se ve mejorada con la presencia de fitoquímicos en la dieta, gracias al efecto que tienen éstos sobre la protección de la proteína dietaria, la reducción de la proteólisis microbiana, la desaminación y la degradación a amoníaco (Durmic y Blache, 2012). Hay varios mecanismos responsables de estos efectos, el primero gracias a la formación de complejos entre compuestos bioactivos como los TC y saponinas con las proteínas del alimento, estos complejos formados protegen físicamente del ataque enzimático de los microorganismos, aumentando el flujo de proteína duodenal y reduciendo las concentraciones de amonio en el rumen (Vélez-Terranova et al., 2014). La alta afinidad de los taninos por las proteínas radica en el gran número de grupos fenólicos que los forma, estos proporcionan muchos puntos en los que puede producirse la unión con los grupos carbonilos de los péptidos (Frutos et al., 2004). La formación de tales complejos es específica tanto en términos del tanino como de la proteína involucrada, así que, el grado de afinidad entre las moléculas participantes reside en las características químicas de cada una (Frutos et al., 2004).

Con respecto a los taninos, los factores que promueven la formación de complejos incluyen su alto peso molecular y su gran flexibilidad estructural, además, las proteínas que tiene mayor afinidad por los TC son relativamente grandes he hidrófobas y ricas en prolina (Frutos et al., 2004). Los complejos podrían producirse a través de cuatro tipos de enlaces: a) enlaces de hidrogeno entre los radicales hidroxilos de los grupos fenólicos y el oxígeno de los grupos amida de los enlaces peptídicos de las proteínas, estos pueden ser reversibles y dependientes del pH. b) interacciones hidrofóbicas entre el anillo aromático de los compuestos fenólicos y las regiones hidrofóbicas de la proteína, estos complejos también son reversibles y dependientes del pH. c) enlaces iónicos entre el ion fenolato y el sitio catiónico de la proteína, este tipo de complejos son exclusivos de los TH y son reversibles. d) enlace covalente a través de la oxidación de polifenoles a quinonas y su posterior condensación con grupos nucleofílicos de la proteína, este tipo de complejos son irreversibles (Frutos et al., 2004). Los enlaces reversibles que se forman entre los taninos y las proteínas son estables con pH de 3,5 a 8, pero se disocian cuando el pH es menor a 3.5 como es el caso del abomaso o superior a 8 como es el caso del duodeno.

Otro mecanismo que se reporta es la reducción de la peptidólisis y la desaminación, efecto que está muy relacionado probablemente con la inhibición del crecimiento microbiano del rumen, este efecto se ha observado generalmente con algunos aceites esenciales (Dirnic y Blache, 2012). Los taninos, a su vez, pueden reducir la degradabilidad de las proteínas ruminales y la digestión de la pared celular de las plantas por que se une a las proteínas alimentarias y a los polisacáridos estructurales como la celulosa, la hemicelulosa y la pectina lo que relentiza su velocidad de digestión. Un mecanismo más de este efecto, es que los TC se pueden unir a enzimas microbianas lo que interfiere con la digestión (Bodas et al., 2012).

- 2) *Acción antimicrobiana sobre algunos microorganismos intestinales*: dado que los rumiantes dependen de la fermentación de los alimentos en el rumen, es necesario comprender los efectos de los fitoquímicos sobre la fermentación ruminal. Algunos de estos compuestos son reconocidos como agentes antimicrobianos, contra bacterias, protozoarios y hongos ruminales. Unos de los principales fitoquímicos activos son los compuestos fenólicos, y su efecto antimicrobiano ya sea microcida o microestático que actúa sobre las bacterias, protozoarios y hongos del rumen proviene principalmente de la capacidad de penetrar la membrana celular bacteriana y desintegrar las estructuras de la membrana lo que provoca la fuga de iones (Bodas et al., 2012).

Entre los compuestos fenólicos con propiedades antimicrobianas se encuentran los taninos, cuyo efecto está dado por la capacidad de inhibir el crecimiento de bacterias celulolíticas y proteolíticas, este efecto está relacionado con el peso molecular, ya que los taninos de bajo peso molecular tienen mayores efectos inhibitorios sobre los microorganismos ruminales. El principal mecanismo de acción de estos compuestos es la formación de complejos con la membrana de la pared celular de las bacterias, este mecanismo causa cambios morfológicos y provoca la secreción de enzimas extracelulares resultando en alteraciones en el metabolismo microbiano (Bodas et al., 2012).

Las saponinas, por su parte, tienen efecto contra protozoarios, que al parecer está dado por su capacidad de formar complejos irreversibles con el colesterol de la membrana celular. La formación de estos complejos ocasiona la destrucción de la membrana celular, lisis y posterior muerte, aunque aún no se ha comprobado que este efecto sea repetitivo para todas las especies de protozoarios (Bodas et al., 2012). Así mismo, estos compuestos tienen actividad antibacteriana contra bacterias Gram positivas, ya que se ha encontrado que inhiben el crecimiento de *Butyrivibrio fibrisolvens* y *Streptococcus bovis* (Patra y Sexana, 2009).

Los aceites esenciales son otro grupo de compuestos capaces de inhibir las bacterias Gram-positivas, sin embargo, debido a su diversidad de metabolitos secundarios que los conforman se ha observado varios mecanismos de acción. El carvacrol por ejemplo, actúa como un portador transmembrana de cationes monovalentes al intercambiar su protón hidroxilo del grupo fenólico por un catión como K^+ reduciendo así la síntesis de ATP y provocando la muerte celular (Macheboeuf et al., 2008; Bodas et al., 2012), el timol, al igual que el carvacrol es conocido por su fuerte actividad antibacteriana, este compuesto aumenta la permeabilidad de la membrana celular y afecta las proteínas incrustadas en la membrana, produciendo la desintegración de la pared celular con liberación del material citoplásmico (Macheboeuf et al., 2008). Por su parte, el grupo carbonilo del cinamaldehído permite la infiltración de este compuesto en el periplasma a través de las proteínas de porina de la membrana externa y altera el metabolismo energético de las células (Macheboeuf et al., 2008; Bodas et al., 2012). Así mismo, el anetol posee propiedades antibacterianas, gracias al grupo éter del anillo aromático (Bodas et al., 2012). Dada la diversidad de compuestos presentes en los aceites esenciales y la diversidad de sus mecanismos de acción, podemos decir que la estructura química determina el mecanismo de acción y los efectos antimicrobianos de los aceites esenciales, en general, en dosis bajas los aceites esenciales podrían usarse como aditivos para manipular la fermentación ruminal y disminuir la degradación de proteínas en el rumen sin efectos adversos sobre el metabolismo energético (Macheboeuf et al., 2008).

Algunos fitoquímicos generan efectos estimulantes sobre algunas poblaciones bacterianas, tal es el caso de las saponinas, que estimulan el crecimiento de *Prevotella ruminicola*, sin embargo, este efecto al parecer es consecuencia de la inhibición del crecimiento de protozoarios y hongos ya que se disminuye la depredación de bacterias por parte de protozoos (Bodas et al., 2012).

- 3) *Favorecen la absorción intestinal:* los fitoquímicos pueden afectar la anatomía y fisiología de la pared intestinal (Durmic y Blanche, 2012), diferentes estudios indican que el consumo de fitoquímicos pueden mejorar la digestión del alimento y la absorción de nutrientes en el intestino. Por ejemplo, los efectos de las saponinas en la digestión del alimento varía, desde disminuciones hasta aumentos en la digestibilidad de la materia orgánica, de la fibra ruminal y del tracto total, lo que indica que las saponinas pueden cambiar el sitio de digestión en el tracto digestivo desde el rumen hasta el intestino posterior (Bodas et al., 2012).
- 4) *Aumentan la producción de propionato:* los ácidos grasos volátiles (AGV) producidos durante la fermentación ruminal aportan la mayor parte de las necesidades energéticas de los rumiantes. Los fitoquímicos pueden actuar de forma específica para alterar las proporciones de AGV's como la relación propionato – acetato (Durmic y Blanche, 2012; Oh et al., 2017). Un resultado deseable, ya que el propionato constituye un sustrato para las células, sin embargo, el efecto que estos compuestos tienen sobre los microorganismos ruminales dependen de la especie vegetal consumida y de la composición química de la misma planta (Bodas et al., 2012). Los mecanismos de acción para reducir la metanogénesis se basan principalmente en la inhibición de la actividad de las bacterias metanogénicas y protozoos mejorando las reacciones metabólicas como una mayor producción de propionato (Vélez-Terranova et al., 2014)
- 5) *Aumentan la palatabilidad de los alimentos, y estimulan su ingestión:* se ha reportado que el consumo de plantas bioactivas o fitoquímicos bioactivos pueden estimular el consumo de alimento ya que estos compuestos se han utilizado como aperitivos y aromatizantes para mejorar la palatabilidad de la dieta (Durmic y Blanche, 2012). Así mismo, la incorporación de algunos fitoquímicos contribuye para proteger a los lípidos del alimento del daño oxidativo gracias a su actividad antioxidante mejorando de esta manera la calidad del alimento (Medel et al., 2017).

6) *Mejoran el estado inmunológico del animal*: el estudio del efecto de los fitoquímicos sobre la respuesta inmune en no rumiantes está bien documentado, sin embargo, su efecto sobre el estado inmunológico de los rumiantes aún es limitado, no obstante, se ha documentado las primeras evidencias de los efectos reguladores sobre este tema. Se ha reportado que los fitonutrientes regulan las células inmunitarias relacionadas con la inmunidad adaptativa e innata en vacas lecheras, este efecto se observó tras el suministro abomasal de aceite de ajo, Cúrcuma y Capsicum cuya respuesta que se observó fue el aumento de las células T auxiliares, relacionadas con la inmunidad adaptativa, sin afectar las poblaciones microbianas intestinales. Así mismo, el suministro de Capsicum protegido en el rumen puede disminuir la secreción de insulina. Los fitoquímicos también se han evaluado para la prevención, control o tratamiento de enfermedades intestinales, como el mantenimiento del equilibrio de la microflora en el intestino, la prevención del daño gástrico o el daño hepático, la reducción de los trastornos gastrointestinales, espasmos, motilidad, diarrea, estreñimiento, acidosis y controlar patógenos intestinales y paraqueratosis ruminal (Oh et al., 2017).

2.5. Fitoquímicos como mejoradores de las características de la canal y calidad de la carne

Recientemente, se han estudiado los beneficios de la inclusión de los fitoquímicos en la alimentación de rumiantes y su efecto sobre las características y calidad los productos cárnicos, algunos de ellos, como mejoradores de las propiedades sensoriales o como mejoradores de las propiedades químicas de la carne. En este sentido, los esfuerzos en la investigación se han centrado en la evaluación de la calidad bioactiva de los productos animales como carne, leche, queso y otros productos (Delgadillo-Puga et al., 2019).

Uno de los factores más importantes que influye la calidad de la carne es el proceso oxidativo que puede ser generado durante la manipulación de la carne o durante el proceso antemortem, una alternativa para disminuir dichas reacciones y prolongar la vida de anaquel de la carne puede ser por medio de la inclusión de productos nutracéuticos o fitoquímicos antioxidantes en el alimento (Mireles-Arriaga et al., 2018).

Diferentes fitoquímicos como los compuestos fenólicos tienen propiedades antioxidantes (Luciano et al., 2009), Así mismo, se ha documentado que los aceites esenciales pueden mejorar la estabilidad antioxidante de la carne y leche (Mendel et al., 2017), por lo que, el suministro de fitoquímicos en la dieta de los animales, pueden ser efectivos para mejorar el estado antioxidante de la carne, contribuyendo a la estabilización del color y el sabor, así como, la prevención de la rancidez, entre otros beneficios (Ortuño et al., 2015).

Fitoquímicos como los TC presentes en la dieta reduce la biohidrogenación ruminal de los ácidos linoleico y linolénico atribuido a la reducción de la actividad de los microorganismos ruminales y se aumenta la expresión de la proteína $\Delta 9$ -desaturasa muscular (Vasta et al., 2009). Las saponinas por su parte, pueden ser útiles para mejorar los productos de origen animal, ya que el suministro de estos compuestos en la dieta para rumiantes puede reducir la acumulación de colesterol en la carne (Vasta y Luciano, 2011).

2.5.1. Mecanismos de acción

Reducción de la biohidrogenación: Los productos cárnicos provenientes de rumiantes contienen una mayor cantidad de ácidos grasos saturados, asociados con un riesgo creciente de enfermedades cardiovasculares (Durmic et al., 2008), en los últimos años, los consumidores demandan productos animales que sean seguros y que promuevan la salud, en este sentido, los productos cárnicos de rumiantes también poseen una familia de ácidos grasos conjugados (Conjugated linoleic acid: CLA) que poseen actividad benéfica tras su consumo (Vasta et al., 2009), sin embargo, el contenido de CLA en la carne y leche está fuertemente relacionado con la biohidrogenación del ácido linoleico y ácido linolénico, durante el proceso de biohidrogenación los ácidos linoleico y linolénico se isomerizan y se saturan gradualmente para formar varios intermedios de dienos de 18 carbonos e isómeros monoeno, resultando como producto final C18:0 (ácido esteárico) (Vasta et al., 2009). Diferentes especies de bacterias ruminales están implicadas en este proceso, incluidas especies de los géneros *Butyrivibrio*, *Ruminococcus*, *Treponema*, *Borrelia*, *Micrococcus*, *Megasphaera*, *Eubacterium*, *Fusocillus* y *Clostridium*. Las especies más activas están en el grupo *Butyrivibrio*, donde todas las bacterias forman CLA a partir de LA, mientras que solo *Clostridium proteoclasticum* convierte VA en SA (Durmic et al., 2008).

Una tasa más baja de biohidrogenación de los ácidos grasos en el rumen se relaciona con una mayor cantidad de ácidos grasos benéficos proporcionados por los sistemas de alimentación a base de forrajes. Por lo tanto, una estrategia que apunta a disminuir la tasa de biohidrogenación involucra el uso de fitoquímicos en las dietas. Uno de los grupos de fitoquímicos con mayor potencial para disminuir la biohidrogenación ruminal son los compuestos fenólicos, cuyos mecanismos de acción observados siguen dos vías posibles: **a)** Los compuestos fenólicos pueden ser oxidados por la enzima polifenol oxidasa que puede disminuir la lipólisis dietética y consecuentemente puede disminuir la biohidrogenación de ácidos grasos en el líquido ruminal. **b)** El segundo mecanismo por el cual los compuestos fenólicos pueden afectar la biohidrogenación, es debido al efecto que tienen para modificar las poblaciones microbianas del rumen por la

capacidad antimicrobianas que poseen principalmente contra bacterias Gram +, lo que genera aún más cambios en la cinética de fermentación ruminal (Delgadillo-Puga et al., 2019).

Actividad antioxidante: el sabor y color de la carne son las dos propiedades sensoriales por los que se puede evaluar fácilmente la calidad de la carne. El color de la carne fresca es la característica más importante para los consumidores, ya que es considerado como un indicador de frescura, especialmente de las carnes rojas y por lo tanto influye sobre la decisión de compra (Li et al., 2017). En carnes rojas, se ha demostrado que son afectadas negativamente por los procesos oxidativos, como la oxidación de los lípidos que contribuye al desarrollo de sabores desagradables especialmente durante el almacenamiento, mientras que, la oxidación de la mioglobina conduce a la decoloración de la carne (Luciano et al., 2009). Se cree que la oxidación de los lípidos y el deterioro del color están relacionados y que los pigmentos hemáticos sirven como catalizadores de la peroxidación de lípidos. La estabilidad del color está influenciado por muchos factores, como las características físicas de la carne y la concentración de pigmentos principalmente de la mioglobina y sus estados químicos ya que es el pigmento clave en el músculo responsable del color, durante el almacenamiento la tasa de acumulación de mioglobina en la superficie se rige por muchos factores intrínsecos como la edad del animal, raza, sexo, dieta y tipo de metabolismo en el músculo, sin embargo uno de los factores más importantes es el pH, siendo una de las principales características que determinan la calidad de la carne y está influenciada por un sinnúmero de factores que pueden interactuar entre si determinando la velocidad de descenso y pH final. Este rasgo es el factor principal que determina las características organolépticas: color, olor y textura de la carne, además de afectar la capacidad de retención de agua. (Li et al., 2017).

En este sentido, Luciano et al. (2009), reportaron efectos de la suplementación de quebracho, planta rica en TC, sobre los cambios de color de la carne de borregos durante el almacenamiento, la mayor cantidad de pigmento encontrado en la carne pudo deberse a un efecto protector de los taninos frente al daño por oxidación de la mioglobina. El mecanismo por el cual los TC pueden afectar la concentración de mioglobina y su estado redox no está claro, es decir, un efecto antioxidante directo de los TC en los tejidos implicaría su absorción y su deposición en el músculo, sin embargo, el destino de los taninos dietéticos no se ha explicado claramente. Un posible efecto de los TC dietéticos sobre la estabilidad oxidativa podría implicar la modificación de los ácidos grasos del músculo debido a los fuertes efectos de los taninos en el metabolismo lipídico en rumiantes (Luciano et al., 2009)

Estudios in vivo e in vitro proporcionaron evidencia del metabolismo activo de los taninos por la microflora intestinal tanto en humanos como en ratas (Rios et al., 2003) estos estudios sugieren

que los taninos no permanecen inertes a lo largo del tracto gastrointestinal más bien los taninos podrían sufrir modificaciones químicas en el intestino que conduzcan a su despolimerización y catabolismo en moléculas más pequeñas que a su vez podrían ser absorbidas (Luciano et al., 2009), pudiendo así generar el efecto antioxidante observado por estos autores.

Composición de ácidos grasos: los taninos pueden modificar la composición de ácidos grasos de la carne lo que podría afectar indirectamente su susceptibilidad a los procesos de oxidación (Luciano et al., 2009). Por su parte los fitoesteroles como el estigmaterol podrían desplazar el colesterol de las micelas y reducir la cantidad de este en el intestino, el mecanismo de acción de estos compuestos es que puede inhibir la Δ -22 reductasa que es una enzima importante en la síntesis del colesterol lo que podría dar como resultado una disminución en la síntesis de colesterol en la carne o leche de rumiantes (Nasri et al., 2012; Delgadillo-Puga et al., 2019).

2.6. Fitoquímicos como alternativa antiparasitaria

En los últimos años, ha habido un creciente interés en las prácticas etnoveterinarias en todo el mundo, especialmente en lo que respecta al uso de plantas medicinales para el tratamiento de diversas enfermedades (Khan et al., 2018), entre ellas, el uso de plantas como método de control alternativo de nematodos gastrointestinales en rumiantes (Moya y Escudero, 2015; De Jesús-Martínez et al., 2019). La gran potencialidad de las plantas como agentes antihelmínticos se deben a la presencia de fitoquímicos bioactivos, estos recursos podrían ser una alternativa económica y sustentable para el control de parásitos, sustituyendo el uso de químicos en los sistemas de producción (Barrabi y Arece, 2013; García-Hernández et al., 2019). En los últimos años se han evaluado extractos de diferentes especies de plantas arbóreas y arbustivas en busca de una alternativa natural y confiable para el control de parásitos gastrointestinales, por lo que el uso de estas o sus extractos en el sistema de alimentación, podría reducir dicha problemática.

2.6.1. Mecanismos de acción

Los mecanismos de acción de los fitoquímicos sobre los parásitos gastrointestinales no están del todo claro (Cortes-Morales et al., 2019), no obstante, estudios han sugerido diferentes mecanismos dependientes de la estructura química del compuesto involucrado (Pérez - Pérez et al., 2014; Cortes-Morales et al., 2019).

Los efectos biológicos de los compuestos fenólicos están determinados por su estructura química, tal es el caso de los flavonoides, la mayoría de ellos tienen afinidad por el sitio activo de las glicoproteínas-P, actuando como sustratos o inhibidores de esta proteína (Cortes-Morales et al.,

2019). Por su parte los efectos biológicos de las saponinas se han atribuido a su interacción específica con las células de la membrana, causando cambios en la pared celular (Pérez - Pérez et al., 2014), específicamente aumentando la permeabilidad celular gracias a su composición química, que consiste en una molécula de azúcar unida a una aglicona hidrófoba (triterpenoide o esteroide) y su capacidad para reducir la tensión superficial del agua y sus propiedades emulsionantes (Botura et al., 2011).

El mecanismo de acción de algunos aceites esenciales se relaciona con el efecto que ejercen sobre los receptores de acetilcolinesterasa que se encuentra en vertebrados e invertebrados produciendo daños neurotóxicos similares a los organofosforados (Katiki et al., 2017), otro posible mecanismo de acción identificado es que estos compuestos impregnan la pared celular y matan a los parásitos por afectar las vías metabólicas citoplasmáticas o gránulos y no por comprometer la integridad de la membrana del parásito que daría lugar a la lisis de la membrana celular (Santoro et al., 2007), así mismo, se ha identificado la importancia que tiene el grupo hidroxilo del anillo de benceno el cual es de vital importancia para una buena actividad insecticida de los aceites esenciales (Katiki et al., 2017). Por otra parte, la hipótesis sobre los mecanismos de acción para inhibir la eclosión de huevo y el desarrollo larvario está relacionado con la capacidad de los compuestos para permear el complejo tricapa de la pared del huevo (Cortes- Morales et al., 2019), así como, la capacidad de inhibir la división celular y, en consecuencia, la formación y desarrollo de estructuras vitales del parásito (Ferreira et al., 2013).

La variación en la eficacia de los compuestos naturales para el control de los parásitos gastrointestinales es determinada por los mecanismos de distribución y biotransformación en el organismo que los consume, la difusión transcuticular es la forma común de entrada en nematodos parásitos para diferentes sustancias (Munguia-Xochihua et al., 2013) otro factor importante que puede afectar la actividad de los fitoquímicos es el tipo de solución y el método de extracción que se utiliza (Munguia-Xochihua et al., 2013).

Diferentes estudios han identificado algunos compuestos responsables de la actividad antiparasitaria como: B-sitosterol aislado del extracto metanólico de rizomas de *Hedychium spicatum*, ha mostrado una fuerte actividad antihelmíntica (Sravani et al., 2014), lactonas sesquiterpénicas extraídas de *Laurus nobilis* (William et al., 2016), quercetina, ácido cafeico, cumarico, y ferulico, así como, metil cafeatos de hojas de *Leucaena leucocephala* (Von Son-de Fernex et al., 2015; Castillo-Mitre et al., 2017), metilgalato y etilgalato de frutos de *Caesalpinea coriaria* (De Jesús-Martínez et al., 2019).

2.6.2. Resistencia antiparasitaria a los fitoquímicos

Diferentes estudios han mencionado que los microorganismos tienen la capacidad de generar tolerancia a la exposición de compuestos secundarios (De Jesús-Martínez et al., 2019), así mismo, la susceptibilidad de los parásitos puede ser diferente dependiendo de la región, (Chan-Pérez et al., 2017).

2.7. Los fitoquímicos como aditivos nutraceuticos para rumiantes

Los aditivos para alimentos son ingredientes que se agregan intencionalmente a las dietas de los animales ya sea en el alimento o en el agua de bebida para mejorar la calidad de los alimentos, promover el crecimiento, descomponer los factores antinutritivos, absorber toxinas, cubrir las deficiencias de nutrientes, influir en la producción, el rendimiento o el bienestar animal, actuar como coccidiostato o histomonostático y para reducir los procesos de pérdida de energía incluida la producción de metano (Mendel et al., 2017). Actualmente los productos a base de plantas se emplean en la industria alimenticia animal principalmente como aditivos sensoriales, sustancias aromatizantes y saborizantes.

2.8. Farmacocinética de los fitoquímicos en rumiantes

A menudo, los herbívoros pueden consumir cantidades sustanciales de plantas con fitoquímicos, especialmente en condiciones de escasez de alimentos, gracias a que pueden adaptarse mediante comportamientos propios del animal (muestreo cuidadoso, mezcla de dietas y consumo rotativo de plantas y alimentos), secreción de sustancias químicas y adaptación o degradación de los fitoquímicos en el intestino (Durmic y Blanche, 2012). Debido a estas adaptaciones que han desarrollado algunos herbívoros especialmente rumiantes, la farmacocinética de los fitoquímicos no está del todo clara, es decir, no se conoce la ruta que toman una vez que son consumidos por los rumiantes, así como la tasa de absorción en los diferentes órganos. No obstante, algunos reportes muestran que cuando estos compuestos son suplementados o consumidos a través de la dieta si logran llegar al sistema portal y así estar disponibles para el organismo (Peña-Torres et al., 2019)

Como ya se mencionó, los herbívoros han desarrollado diferentes estrategias que limitan la absorción de los fitoquímicos, por lo que su estudio resulta ser más complejo. Por ejemplo, para que los fitoquímicos puedan ser absorbidos requieren que estos tengan biodisponibilidad directa o en su caso sean degradados por los microorganismos ruminales para su posterior absorción,

por lo tanto para poder esclarecer la farmacocinética de estos compuestos es necesario considerar cada uno de estos factores.

Los microorganismos ruminales son uno de los factores más importantes durante la cinética de los fitoquímicos en rumiantes ya son capaces de degradar o modificar el comportamiento de algunos de ellos como es el caso de los TH, que son degradados para liberar metabolitos primarios como el ácido gálico y elálgico y secundarios como pirogalol, floroglucinol, y eventualmente resorcinol, que se absorben en el tracto posterior, además los elagitaninos pueden transformarse en el rumen en isourolitina principalmente A y urolitinas especialmente B que se absorben y se encuentran en la circulación sistémica (Mendel et al., 2017).

La secreción de sustancias químicas es otro de los factores importantes a considerar, consiste principalmente en la producción de proteínas salivales ricas en prolina e histatinas, proteínas que se caracterizan por su alta afinidad hacia algunos compuestos principalmente fenólicos como los TC con los que pueden formar complejos estables en la cavidad bucal lo que previene la interacción de los taninos con otras proteínas a nivel ruminal, estos compuestos permanecen estables a través de su paso por el tracto gastrointestinal y son excretados en las heces (Ventura et al., 2013), estos complejos formados con las proteínas salivales suprimen la unión con otras sustancias, su transformación y absorción, por lo que no se absorben en el torrente sanguíneo, limitando la capacidad bioactiva de estos compuestos (Mendel et al., 2017).

Aparte de los efectos como agentes antimicrobianos, se sabe que los fitoquímicos se unen a receptores específicos expresados en neuronas, intestinos y otras células y exhiben efectos fisiológicos en no rumiantes, los efectos mediados por el receptor incluyen respuestas inmunes, estrés oxidativo, así como la secreción y actividad de la insulina, los fitoquímicos de naturaleza fenólica son menos susceptibles a la degradación microbiana en el rumen lo que permite su paso al tracto posterior donde pueden exhibir actividades postruminales similares a su modo de acción en no rumiantes lo que abre una nueva área de investigación que incluye los efectos de los fitoquímicos en el sistema inmunológico del animal, el uso de nutrientes postruminales y la fisiología animal (Ho et al., 2017).

La biodisponibilidad de los flavonoides cambia a medida que se desarrolla un rumiante debido a cambios en la permeabilidad intestinal, la capacidad de absorción, la colonización microbiana y el desarrollo del rumen (Olagaray y Bradford, 2019) en humanos y animales monogástricos la biodisponibilidad de los flavonoides está determinada por la fracción de azúcar que determina el sitio de absorción, los flavonoides más complejos se absorben en la parte distal del intestino

delgado y el colon, mientras que las flavonoides más biodisponibles se absorben en el intestino delgado (Olagaray y Bradford, 2019).

No hay datos claros que explique el destino de los aceites esenciales en el intestino de los rumiantes, pero hay evidencia de resistencia de algunos aceites esenciales en el fluido ruminal (Mendel et al., 2017), aunque también se han encontrado residuos de aceites esenciales en la leche de vacas alimentadas con plantas ricas en estos compuestos (Mendel et al., 2017). La tasa de absorción de estos compuestos en el tracto gastrointestinal y el alcance del torrente sanguíneo puede variar debido a la acción de enzimas, microorganismos del rumen o intestino, factores de estrés, especie animal y biotransformaciones que puedan sufrir durante su paso por el tracto gastrointestinal (Peña –Torres et al., 2019).

2.9. Efectos residuales

Teniendo en cuenta el impacto de las plantas con fitoquímicos o sus extractos en el rendimiento animal en general, es necesario tomar en cuenta las posibles consecuencias de su presencia en varios tejidos (Mendel et al., 2017). Los principios activos pueden ser diferentes compuestos con estructuras químicas casi idénticas, por lo que un extracto puede tener una actividad mayor que el principio aislado y purificado, además, suelen tener mayor estabilidad, actividad y tolerancia, careciendo en la mayoría de los casos de efectos adversos o de generación de residuos (Santamaría et al., 2015), generalmente son seguros con menos efectos secundarios si se administran en las dosis terapéuticas adecuadas (Khan et al., 2018).

2.10. Efectos adversos sobre la salud y bienestar animal

La salud animal es parte del bien estar animal, ya que la definición de este, se basa en la provisión de alimentos y agua, ausencia de malestar, dolor, lesiones y enfermedades; miedo, angustia y libertad, para expresar comportamientos normales (Durmic y Blache, 2012).

Si bien es cierto que los fitoquímicos pueden contribuir al mejoramiento del bienestar del ganado, se debe tener muy presente los efectos adversos que estos pueden generar tras un mal suministro (Féboli et al., 2016). Como ya se mencionó, los compuestos secundarios son sintetizados por las plantas para su protección, tal es así, que muchos compuestos tienen efectos adversos y en determinados casos, los efectos son fatales tras su consumo. En general, las plantas bioactivas y los fitoquímicos extraídos de ellas pueden afectar los órganos, sistemas y la funcionalidad de los

animales, así como, modificar el comportamiento de estos, llegando a producir efectos agudos, crónicos, reversibles o irreversibles y tóxicos. Entre los padecimientos que se pueden generar tras el consumo de los fitoquímicos incluye gastroenteritis, atonía ruminal, menor viscosidad del contenido ruminal y daño hepático (Durmic y Blanche, 2012). Algunos aspectos importantes que se debe considerar principalmente para la utilización de plantas con potencial antihelmíntico, son los posibles efectos adversos de los compuestos a quien se le atribuyen propiedades bioactivas, los cuales en algunos casos pueden opacar los efectos terapéuticos (Moya y Escudero, 2015).

Por ejemplo, se han sugerido tres mecanismos principales para explicar los efectos negativos de las altas concentraciones de compuestos fenólicos en la ingesta voluntaria de alimento: **1)** por la reducción de la palatabilidad del alimento: provocada por una reacción entre los taninos y las mucoproteínas salivales o por una reacción directa con los receptores gustativos, provocando una sensación astringente. **2)** la ralentización de la digestión: como ya se mencionó, los taninos reducen la digestibilidad de la MS, este proceso afecta el vaciado del tracto digestivo lo que genera señales de que el animal está lleno, esto podría influir directamente sobre la ingesta voluntaria más que en la palatabilidad. **3)** el tercer mecanismo se basa en la identificación de las consecuencias postprandiales negativas tras la ingestión de taninos y el desarrollo posterior de las aversiones condicionadas (Frutos et al., 2004)

Los TC son también agentes quelantes, esto podría reducir la disponibilidad de ciertos iones metálicos necesarios para el metabolismo de los microorganismos del rumen (Frutos et al., 2004), por su parte, las saponinas pueden ser tóxicas ya que interfieren en la captación de esteroides o alteran las membranas celulares después de ser absorbidas por la sangre (Verma y Shucla, 2015), mientras que los glucósidos cianogénicos pueden causar parálisis de las extremidades. Por estas razones para poder suministrar los fitoquímicos o plantas que contiene fitoquímicos como suplemento, aditivo o medicamento preventivo o curativo es necesario evaluar que estas sean seguras (Féboli et al., 2016).

2.11. Potencial nutracéutico de los recursos forrajeros nativos

El bosque caducifolio bajo es un ecosistema que cubre el 8% de la superficie del territorio nacional, estando presente en los estados de Baja California, Campeche, Chiapas, Colima, Estado de México, Guerrero, Michoacán, Morelos, Nayarit, Oaxaca, Puebla, Sonora, Tamaulipas, Veracruz y Yucatán. Estos ecosistemas incluyen plantas que son importantes en varios aspectos, como el secuestro de carbono, la construcción, las actividades ceremoniales, artesanías, combustibles,

medicinales, entre otras. Así mismo, la biomasa forestal de estos ecosistemas se utiliza con frecuencia para alimentar a los pequeños rumiantes, siendo una fuente importante de nutrientes y en algunos casos representa la única fuente de alimento, se ha reportado que más de 200 especies de plantas poseen potencial para la alimentación de pequeños rumiantes. no obstante, hasta la fecha existen pocos enfoques para identificar plantas con propiedades nutraceuticas a pesar de la gran diversidad biológica de los recursos forrajeros nativos, considerando estos aspectos, la identificación del valor nutraceutico de las especies vegetales será un factor clave a considerar para desarrollar estrategias de alimentación que promuevan el uso sostenible y preservación de los recursos forrajeros nativos (Torres-Fajardo et al., 2020).

2.12. Productos herbales para rumiantes

Los productos herbales son productos elaborados a base de hierbas y especias que no son obtenidos con solventes para su extracción, es decir, se constituyen de plantas o partes de ellas en forma de harinas, al no pasar por algún proceso de purificación, poseen moléculas con uno o varios compuestos bioactivos (Mendoza-Martínez et al., 2018).

Hay varias formas en que la biomasa puede ser utilizada en la alimentación animal, como la mezcla de hojas y frutas en el alimento o en bloques nutricionales (Rojas-Hernández et al., 2015). A la fecha, se han probado diferentes plantas o parte ellas principalmente en forma de harinas, mismas que son sometidas a procesos de secado cuidadoso que permite mantener sus propiedades físicas y químicas, estos productos son integrados a la dieta de los rumiantes como productos nutraceuticos en forma de sustitutos (Gómez-Gurrola et al., 2014), suplementos o aditivos, con el objetivo de mejorar el valor nutritivo y palatabilidad de los alimentos o como fuente de fitoquímicos para modificar la microflora ruminal, aumentar la digestión y absorción de nutrientes, como mejoradores de la calidad de los productos cárnicos o en su caso para mejorar la salud de los animales como bactericidas y antiparasitarios.

Entre algunas de las plantas evaluadas se encuentran: el fruto de *Guazuma ulmifolia* como sustituto de maíz en la dieta de corderos Pelibuey y su efecto sobre el comportamiento productivo y rendimiento en canal (Gómez-Gurrola et al., 2014), *Enterolobium cyclocarpum* como sustituto de grano de sorgo, maíz, pasta de algodón en borregos y su efecto sobre la ganancia de peso (Alvarez et al., 2003; Peralta et al., 2004), *Acacia farnesiana* como complemento en bloques nutricionales (Rojas-Hernández et al., 2015) y *Acacia cochliacantha* (Rojas-Hernández et al., 2015; Mireles et al., 2015).

2.13. Extractos vegetales

Los extractos vegetales se encuentran dentro del grupo de los aditivos clasificados como sustancias aromáticas y saborizantes (Pedraza, 2008), son compuestos extraídos de sustancias biológicamente activas presentes en los tejidos de las plantas por medio de un solvente (Santamaría et al., 2015), en este grupo, se incluyen todos los productos naturales que pueden utilizarse como aditivo en todas las especies animales sin restricción alguna en relación a la edad y dosis, dado que estos productos son muy bien aceptados por el consumidor como una de las alternativas a los antibióticos promotores de crecimiento con más futuro (Pedraza, 2008),

Diferentes plantas medicinales y aromáticas o sus extractos han sido tradicionalmente utilizados para tratar diferentes desordenes metabólicos y mejorar el comportamiento productivo de los animales, con efectos benéficos, ya sea por la presencia de uno o la combinación de diferentes fitoquímicos presentes en las plantas (Alexander et al., 2008).

2.14. Huizache (*Acacia farnesiana*) L. Willd.

Acacia, es un género de leguminosas leñosas autóctonas que ocupa un lugar dominante entre las plantas de zonas semiáridas y áridas de los países tropicales y subtropicales. En el mundo, solo alrededor de 900 géneros de acacias se cultivan de forma extensiva para la alimentación del ganado, algunos estudios han demostrado que la hojas, frutos y semillas de algunas especies de acacias cuando se ofrecen como suplemento de los alimentos de mala calidad dan ganancias de peso comparables a las del ganado alimentado con pasta de semillas de oleaginosas y alfalfa (Guebeyew et al., 2015).

Acacia farnesiana (L.) Willd, es una leguminosa arbustiva originaria de América tropical, aunque ha sido naturalizado en áreas tropicales y subtropicales en todo el mundo debido a su alta capacidad de adaptación a diversas condiciones climáticas, geográficas y de altitud, lo que facilita su adaptación a diferentes ambientes. En México su área de distribución es heterogénea, se encuentra en diferentes regiones de clima tropical, desde el sur de sonora hasta Chiapas (Ayala-Burgos et al., 2006). Esta planta es conocida comúnmente como huizache, aroma, corteza de curtidora, espina divina entre otros (CONABIO, 2009).

2.14.1. Clasificación taxonómica

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de *Acacia farnesiana* (L.) Willd.

| | |
|----------------|-------------------------------------|
| Reino | Plantae |
| Subreino | Traquebionta (Plantas vasculares) |
| Súper división | Spermatophyta (plantas con semilla) |
| División | Magnoliophyta (Plantas con flor) |
| Clase | Magnoliopsida (dicotiledónias) |
| Subclase | Rosidae |
| Orden | Fabales |
| Familia | Fabaceae |
| Subfamilia | Mimosidae |
| Truibu | Acaciae |
| Genero | <i>Acacia</i> |
| Especie | <i>Acacia farnesiana</i> |

(CONABIO, 2009)

2.14.2. Características fisiológicas

Es un arbusto espinoso perennifolio, con una altura de 1 a 2 m en su forma arbustiva y de 3 a 10 m en su forma arbórea (Ayala-Burgos et al., 2006), es subcaducifolio y tiene copa redondeada; hojas bipinnadas, alternas y con 2 a 7 pares de folíolos primarios opuestos y 10 a 25 folíolos secundarios. El tronco es corto y delgado, las ramas ascendentes, dotada con espinas de 6 a 25 mm de longitud. La corteza externa es de textura lisa en ramas jóvenes y al madurar se vuelve fisurada y grisácea, con abundantes lenticelas dispuestas en líneas transversales. Tiene sus flores en cabezuelas que nacen de las axilas de las espinas y pueden ser solitarias o presentarse en grupos de 2 o 3 y son de color amarillo. Los frutos son vainas rojizas de consistencia semidura, solitarias o agrupadas en las axilas de las espinas, miden de 2 a 10 cm de largo, poseen la punta aguda y las valvas coriáceas, éstas permanecen en el árbol después de madurar y su dehiscencia

es tardía, en su máximo punto de maduración cae al suelo. La semilla es de forma reniforme con tamaño de 6 a 8 mm de largo de coloración pardo-amarillento con olor fuerte y penetrante, la testa de la semilla es impermeable al agua. Su raíz tiene un crecimiento vertical el cual le ayuda a obtener el agua del subsuelo, es de sexualidad hermafrodita, es decir, es aquella `planta que presenta o posee los órganos masculinos (estambres) y femeninos (pistilos) en la misma flor.

2.14.3. Usos

A pesar de ser considerada como maleza, a esta planta se le ha dado diferentes usos; como ornamentales, control de erosión en suelos degradados, para curtir pieles, como forrajera y medicinal. *A. farnesiana* tiene un gran número de usos en la medicina tradicional, por ejemplo, la corteza se emplea para tratar la tos y como astringente, la flor en decocción se utiliza para tratar prolapso rectal y como inyección para tratar la leucorrea, además, como estimulante, antiespasmódico, en ungüento para el dolor de cabeza y en infusión para la dispepsia, las hojas tiernas se utilizan para tratar úlceras y llagas, así como, para el tratamiento de la gonorrea y afecciones de la vejiga. Las raíces se mastican para el dolor de garganta y en decocción se emplea para tratar la tuberculosis, el fruto verde se emplea en infusión para tratar la disentería e inflamación de la piel (Deshmukh et al., 2018). Así mismo, se ha estudiado las hojas y frutos de esta planta para ser utilizados como parte de la dieta de pequeños rumiantes, (Ramirez et al., 1999; Ayala-Burgos et al., 2006; García-Winder et al., 2009; Velázquez et al., 2011b; Barrientos-Ramírez et al., 2012; Olivares-Pérez et al., 2017; Delgadillo-Puga et al., 2019), demostrando que puede ser aprovechada como fuente de proteína para dietas de bajo costo (Velázquez et al., 2011), además, la presencia de compuestos bioactivos en contra de nematodos gastrointestinales la encaminan a ser utilizada en las dietas como un ingrediente nutracéutico en la alimentación de rumiantes.

2.14.4. Composición nutricional

La composición nutricional de *A. farnesiana* es muy variada, y está influenciada por la región de origen, estado fisiológico, así como la parte de la planta que se utiliza (Velázquez et al., 2011a). Se han reportado contenido de MS de 89 a 97 %, contenidos de PC de 9.4 a 20.3 %, mientras que se han observado niveles de 23 a 61.7 y 16 a 66 % de fibra detergente neutro (FDN) y fibra detergente ácido (FDA) respectivamente (Cuadro 2).

2.14.5. Fitoquímicos reportados en *A. farnesiana*

Se han reportado diferentes fitoquímicos encontrados en hojas y frutos de *A. farnesiana*, dentro de los más estudiados se encuentran los TC y fenoles totales (Ayala Burgos et al., 2006; Garcia-Winder et al., 2009; Velázquez et al., 2011b; Olivares- Pérez et al., 2019). Estudios más especializados han reportado diferentes fitoquímicos identificados a partir de extractos acuosos, alcohólicos e hidroalcohólicos de hojas y frutos entre los que se encuentran: flavonoides glucósido y Galoil-glucósido de Kaempferol, glucósido de sitosterol y la flavona farnisin, así como los aminoácidos raros Ácido djenkílico, Acetilglutamyl, Acetilsulfóxido, Ácido pipecólico y su derivado 4-hidroxilado (Sahu et al., 1997). Hassan *et al.* (1993) reportaron para extractos etanolicos siete compuestos: Ácido gálico, Ácido elágico, Ácido m-digálico, Galato de metilo, Kaempferol, Aromadendrin, y Naringenina. Delgadillo-Puga et al. (2019), reportaron un número importante de compuestos derivados del estigmaterol, como 22E-stigmasta-5, 22-dien-3 β -ol, 22E-stigmasta-5, 22-dien-3 β -acetilo, estigmasta-5,22-dien-3 β -OD-glucopiranosido y estigmasta-5,22-dien-3 β -OD-tetraacetilglucopiranosido. El aceite esencial de Cassie contiene anisaldehído, ácido benzoico alcohol bencilico, ácido butírico, cumarina, cresol, cunaldehído, decil aldehído, eicosano, eugenol, farnesol, geraniol, hidroxiacetofenona, metil eugenol, salicilato de metilo, nerolidol, ácido palmítico y terpineol (Deshmukh et al., 2018).

2.14.6. Propiedades bioactivas

El fruto se ha utilizado para combatir los fuegos en la boca, como antiespasmódico, astringente y para combatir las picaduras de diferentes insectos, incluso en tintura se ha utilizado para combatir la picadura de alacrán, recientemente ha sido estudiada por sus propiedades broncodilatadoras, antiinflamatorias, anticancerígenas, antiobesidad, hepatoprotector, y propiedades antidiabéticas (Delgadillo et al., 2015; Deshmukh et al., 2018), pero también por sus funciones biológicas, por ejemplo, a los extractos obtenidos de estas plantas se les ha evidenciado funciones antimicrobianas, antioxidantes y recientemente como antihelmínticas tanto en animales como en humanos (Delgadillo et al., 2015; Delgadillo-Puga et al., 2019). Muchos de los compuestos químicos que se han identificado en las vainas de *A. farnesiana* se han evaluado por sus propiedades bioactivas, encontrado propiedades antihelmínticas principalmente de los extractos hidroalcohólicos (Suresh Kasala et al., 2017). Las hojas y frutos también poseen TC, a los cuales se les atribuye propiedades benéficas sobre la digestión de la proteína, no obstante, el consumo

elevado de estos compuestos puede causar efectos adversos, por lo que la evaluación local del contenido de fitoquímicos es necesaria para definir niveles de inclusión en las dietas.

Cuadro 2. Composición nutricional y concentración de taninos en frutos de *Acacia farnesiana* (g¹ kg MS)

| Autor | MS | MO | PC | EE | FC | FDN | FDA | CEN | ELN | FT | TC |
|---|------------|-------|------------|----------|-----|------------|------------|----------|------------|-------|-----|
| Ayala Burgos et al., 2006 | | | 120-160 | | | 359 | 190 | 43-44 | | 355 | 97 |
| Quiroz-Cardozo et al., 2015 | 896.2 | 962.6 | 138.1 | 7.7 | | 537.4 | 443.0 | | | 49.1 | 91 |
| Garcia-Winder et al., 2009 | 907 | | 121 | 20 | 132 | | | 35 | 690 | 130 | 102 |
| Velázquez et al., 2011 | 896 | 962 | 115 | 18 | | 476 | 373 | | | | 78 |
| Barrientos-Ramírez et al., 2012 (semilla-cascara) | 889 906 | | 203 149 | 25 14 | | 617 593 | 622 660 | 15 11 | 540 642 | | |
| Cuchillo et al., 2013 | BS | | 94 | 13 | 85 | | | 31 | 778 | | |
| Olivares- Pérez et al., 2017 | 978 | 953.1 | 153.1 | | | 230.3 | 162.1 | 46.8 | | 397.3 | 24 |

III. JUSTIFICACIÓN

Recientemente se han tomado cada vez más en consideración las repercusiones ambientales de la producción ganadera, el trato humanitario de los animales, así como, el impacto del consumo de productos derivados de esta actividad sobre la salud humana, en consecuencia, se requiere que la producción de alimento se realice de una manera limpia, ecológica y ética, lo que implica un uso limitado de medicamentos, productos químicos y hormonas, al tiempo que se reduzca el impacto de la producción de alimentos sobre el medio ambiente, considerando el bienestar animal.

La creciente necesidad de encontrar aditivos alimentarios alternativos para rumiantes resulta importante en dos cuestiones: por un lado, la necesidad de la reducción de gases de efecto invernadero y por el otro, la necesidad de encontrar alternativas al uso de antibióticos promotores de crecimiento y productos químicos utilizados para promover la salud y productividad de los animales.

En búsqueda de alternativas naturales a esta problemática, existe interés en los compuestos y metabolitos secundarios de las plantas para ser utilizados como productos nutraceuticos en animales, estos compuestos contribuyen significativamente en la industria farmacéutica y nutricional, por lo que pueden ser útiles en la alimentación de los rumiantes para promover la productividad y salud de estos, ya que algunos de ellos presentan actividad biológica para mejorar la digestibilidad de los alimentos y absorción de nutrientes, así mismo, se perfilan como agentes mejoradores de las características y calidad de los productos cárnicos, además, de la capacidad que estos compuestos tienen como alternativa natural para el control de parásitos gastrointestinales.

La selva baja caducifolia provee una gran variedad de plantas con potencial nutraceutico ya que por un lado constituyen una fuente de alimento y nutrientes para rumiantes por la capacidad que tienen para producir forraje y frutos de alta calidad nutricional en épocas críticas del año y proveer nutrientes, mientras que por el otro, contienen una gran cantidad de fitoquímicos bioactivos que pueden promover mejoras sobre la productividad y la salud de los animales, por esta razón pueden convertirse en la base para conformar dietas con bajos costos y al mismo tiempo, mejorar las estrategias de alimentación, principalmente, en los sistemas de producción de baja escala.

IV. HIPÓTESIS

Los fitonutrientes de las vainas de *Acacia farnesiana* mejoraran el estado nutricional y sanitario de ovinos de pelo, actuando como nematocida y mejorando la productividad así como los indicadores de calidad de la carne.

V. OBJETIVOS

Objetivo general:

Determinar el efecto nutracéutico de los fitonutrientes de los frutos del Huizache (*Acacia farnesiana*) sobre la respuesta productiva, características de canal, calidad de la carne y su efecto nematocida en ovinos de pelo.

Objetivos específicos

1. Determinar el efecto de la inclusión de frutos de *Acacia farnesiana* en la dieta de ovinos sobre los parámetros productivos.
2. Determinar el efecto de la inclusión de frutos de *Acacia farnesiana* en la dieta para ovinos y su efecto sobre las características de la canal y calidad de carne.
3. Determinar el efecto larvicida y ovicida del extracto hidroalcohólico de *Acacia farnesiana*, así como de sus fracciones contra de huevos y larvas del parásito *Haemonchus contortus*.

VI. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1. Experimento I

Comportamiento productivo

Sitio experimental: El estudio se realizó en la Unidad Metabólica del Centro Universitario UAEM Temascaltepec, que se localiza a 19° 2' 40" latitud norte y -100° 2' 42" (-100.045) longitud oeste, a una altura de 1800 msnm, Temascaltepec de González, estado de México, México. Con presencia de lluvias en verano y temperatura media de 18 °C (García, 1988).

Material vegetal: Se recolectaron frutos maduros de *Acacia farnesiana* en siete localidades diferentes (7 árboles por sitio) en el municipio de Tejupilco (latitud 18°90' 58" latitud norte y longitud -100° .15'27" longitud oeste), ubicado en la zona sur-poniente del estado de México, México, durante la primavera. La recolección del fruto se realizó por las mañanas (6:00 -7:00 am), procurando coleccionar frutos maduros de color verde oscuro. Dichos frutos se trasladaron al laboratorio de nutrición animal del Centro Universitario UAEM Temascaltepec, donde fueron secados a la sombra hasta alcanzar peso constante y posteriormente fueron molidos a un tamaño de partícula de 5 mm con un molino de martillo (New Holland, 2315) y conservados hasta su uso en las dietas experimentales.

Animales: se utilizaron 32 ovinos machos de la raza Katahdin x Charollais con peso de 20 ± 2.5 kg y edad de 70 ± 15 días, a su llegada a la Unidad Metabólica del Centro Universitario UAEM Temascaltepec, fueron pesados para agruparlos de acuerdo a su peso de mayor a menor, resultando ocho bloques homogéneos de cuatro animales cada uno. Cada animal fue alojado en una corraleta individual elevada de 0.80 x 1 m, provistas de un bebedero y comedero. En cada bloque los tratamientos se asignaron de manera aleatoria, posterior a esto los animales recibieron intramuscularmente 1 mL de Vigantol ® ADE equivalente a 250,000 UI de vitamina A, 37,500 UI de vitamina D y 25 mg de vitamina E1 y 2,5 ml de bacterina de 8 vias (BOBACT 8 ®) para la prevención de clostridiosis y neumonías.

Alimentación: todos los animales recibieron una dieta basal para la etapa de crecimiento (15% PC y 2.9 Mcal/kg) y otra para finalización (14 % de PC y 3.0 Mcal/kg), de acuerdo a sus requerimientos nutricionales (NRC, 2007), (Cuadro 1). Ambas dietas se les realizó análisis químico proximal (AOAC,

1997), y fraccionamiento de fibras de acuerdo a la metodología descrita por Van Soest, (1991). La dieta se suministró en tres frecuencias a las 7:00, 13:00 y 19:00 h, bajo la siguiente proporción 30, 30, 40 % en ambos periodos. A todos los animales se les alimento durante todo el experimento considerando su consumo voluntario y suministro de agua fresca *ad libitum*.

Periodos experimentales: la fase experimental tuvo una duración de 70 días divida en dos periodos (crecimiento y finalización). Previo al inicio de la fase experimental se dio un periodo de adaptación a las jaulas de 10 días, la fase de crecimiento tuvo una duración de 21 días y la finalización un periodo de 49 días.

Tratamientos: Lo tratamientos consistieron en diferentes niveles de harina de frutos secos de *A. farnesiana*: Control (0), T1: (1.5), T2: (3.0) y T3: (4.5), como porcentaje de la dieta basal (BS) en cada etapa.

Cuadro 3. Dietas para ovinos en crecimiento y finalización adicionadas con diferentes niveles de harina de frutos de *Acacia farnesiana*

| Ingredientes | Crecimiento | | | | Finalización | | | |
|----------------------|-------------|------|------|------|--------------|------|------|------|
| | T0 | T1 | T2 | T3 | T0 | T1 | T2 | T3 |
| Maíz rolado | 38.0 | 37.3 | 36.5 | 35.5 | 50.0 | 50.0 | 50.0 | 50.0 |
| P. de saya | 9.0 | 9.0 | 9.0 | 9.0 | 7.0 | 7.0 | 7.0 | 7.0 |
| P. de canola | 6.0 | 6.0 | 6.0 | 6.0 | 7.5 | 7.5 | 7.5 | 7.5 |
| Sorgo entero | 9.0 | 9.0 | 9.0 | 9.0 | 9.3 | 8.5 | 7.5 | 6.5 |
| <i>A. Farnesiana</i> | 0.0 | 1.5 | 3.0 | 4.5 | 0.0 | 1.5 | 3.0 | 4.5 |
| Melaza | 8.0 | 8.0 | 8.0 | 8.0 | 8.0 | 8.0 | 8.0 | 8.0 |
| Urea | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| Heno de alfalfa | 22.5 | 21.7 | 21 | 20.5 | 10.0 | 9.3 | 8.8 | 8.3 |
| R. de maíz | 5.0 | 5.0 | 5.0 | 5.0 | 5.0 | 5.0 | 5.0 | 5.0 |
| P. minerales | 2.0 | 2.0 | 2.0 | 2.0 | 2.0 | 2.0 | 2.0 | 2.0 |

| | | | | |
|--------------|-----|-----|-----|-----|
| C. de calcio | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| Sal común | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 |

Evaluación de la respuesta productiva: después de los diez días de adaptación a las jaulas y a la alimentación individual los animales fueron pesados por tres días consecutivos con previo ayuno, para conocer el peso vivo inicial (PVI), posteriormente se pesaron al finalizar el periodo de crecimiento, es decir, en el día 21, y al día 70, al final de la fase de finalización, durante toda la fase experimental se registró el consumo de materia seca (MS), ganancia de peso total (GPT), adicional mente se calcularon la ganancia diaria de peso (GDP) y eficiencia alimenticia (EA).

Variables post-mortem: en el día 70 del periodo experimental los animales fueron trasladados a un rastro particular localizado en el municipio de Capulhuac, Estado de México, para su sacrificio basándose en la norma NOM-033-SAG/ZOO-2014 y Colomer-Rocher et al. (1987).

Se registró el peso vivo de los animales a la salida de la granja y el peso vivo de llegada al rastro para estimar el rendimiento en granja ($\text{rendimiento en granja, \%} = (\text{PV llegada en rastro, kg} / \text{PV salida a granja, kg}) * 100$). Antes de sacrificar a los animales se registró el PV, para estimar el rendimiento comercial ($\text{\%} = (\text{canal caliente, kg} / \text{PV al sacrificio, kg}) * 100$

Vísceras y subproductos: una vez sacrificado el animal, se registró el peso de la sangre, piel, cabeza y patas. Vísceras rojas (corazón, hígado, pulmones y tráquea). Vísceras verdes vacías (rumen, retículo, omaso y abomaso, intestinos grueso y delgado). Algunos órganos del sistema reproductor (testículos y pene), así como el peso de la grasa interna total de la cavidad torácica y abdominal.

Características y calidad de la canal: a los 45 minutos postmortem se registró el peso de la canal caliente (báscula digital portátil, Rhino), pH y temperatura (potenciómetro marca Hanna) del músculo *Longissimus dorsi* entre la 12 y 13 costilla (Cañeque et al., 2004). Posteriormente la canal fue llevada a la cámara fría (4°C) para que a las 24 horas se registrara el peso de la canal fría, pH y temperatura. Se midió el color del músculo *Pectoralis profundus* y color de la grasa superficial del musculo glúteo medio, dicha variable fue evaluada por el sistema L* (luminosidad), a* (rojizo) y b* (amarillento) (Centre Internationale de L'Éclairage Colorimetry) con un colorímetro Minolta (Chroma Metro CR-200, Minolta Camara C., Osaka, Japón) (Cañeque et al., 2004). Así mismo, se midió los grados GR, que indica la profundidad total del tejido (mm) entre la superficie de la canal y la costilla, sobre la región de la 12^a

costilla y en un punto de 11 cm de la línea media; este indicador estima la grasa subcutánea: escasa o nula cobertura de grasa (GR de 0 a 4 mm), moderada cobertura de grasa (GR de 5 a 9 mm), abundante cobertura de grasa (GR de 10 a 15mm), excesiva cobertura de grasa (GR >15mm) (Partida de la Peña et al., 2017). Entre la 12 y 13 costilla, se determinó el área del músculo *Longissimus dorsi* (Rust, 1970).

Características morfométricas y cortes primarios de la canal: utilizando la metodología de Cañeque et al. (2004) y Colomer-Rocher et al. (1987) se midió (cinta métrica) la longitud de la canal, perímetro de la grupa, largo de piernas y perímetro de las piernas. El ancho mayor y menor del tórax se midió con un compás métrico. Se realizaron cortes de acuerdo de piernas, cuello, espaldilla, rack, costillar y lomo de los cuales se registró el peso por separado con una báscula digital marca Torrey con precisión de 0.05 g (Ruiz de Huidobro et al., 2005).

Calidad de la carne: una muestra de 100 g fue tomada del *Longimus dorsi*, para evaluar a las 24, 48 y 72 h la capacidad de retención de agua (Torres, 2005), el color de la carne se determinó mediante la metodología descrita por (Garrido et al. (2005) y Cañeque et al. (2004). La fuerza de corte se midió con un (Texturómetro, TAXT2, Stable Microsystems Corp, NY, EE. UU.) (Bratzler, 1949; Beltrán, 2005).

Diseño experimental y análisis de resultados: la información obtenida fue analizada a través de un diseño de bloques completos al azar mediante el procedimiento GLM del SAS (SAS, 2014), tomando como factor de bloqueo el peso vivo inicial de los animales, también el peso vivo inicial (PVI) fue considerado como covariable en los análisis. La comparación de medias entre tratamientos se determinó con la prueba de Tukey, se declararon diferencias significativas cuando $P \leq 0.05$ y tendencias cuando $P \leq 0.1$.

6.2. Experimento II

Efecto antiparasitario

Todos los productos químicos utilizados en este estudio fueron de grado analítico-reactivo: Etanol, metanol, dimetilsulfóxido (DMSO), agua diluida, acetonitrilo, 2 aminoetil difenilborinato, galato de etilo (> 96%, CS), ácido gálico (> 99%, CS), naringenina (> 95%, CS), naringina (> 90%, CS) se adquirieron

de Sigma-Aldrich (MO, EE.UU.). Los materiales y reactivos para los ensayos de modelos biológicos (% EHI) fueron adquiridos con Corning® (NY, EE. UU.). El producto natural, reactivo de polietilenglicol (NP-PEG; solución metanólica al 1% de difenilboriloxietilamina, seguido de etanol polietilenglicol) se utilizó como reactivo de detección química (Wagner y Blatt, 2001).

Todos los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) se registraron en Bruker Advance III HD-600 a 600 MHz para ¹H NMR, ¹H – ¹H COSY, HSQC y HMBC y 150 MHz para ¹³C NMR y DEPT en CD₃OD y DMSO-D₆. Los desplazamientos químicos se expresan en ppm con respecto al tetrametilsilano (TMS). El análisis de espectroscopía de masas se realizó en un espectrómetro de masas Waters Xevo TQD con una fuente de iones ESI (Waters Milford, EE.UU.). Los espectros ultravioletas (UV) se obtuvieron usando un detector de matriz Waters (Waters Co. 2996, Milford, EE. UU.). La cromatografía en capa fina (TLC) se realizó utilizando TLC Silica gel 60, F254 y láminas de aluminio de 20 x 20 cm (Merck KGaA, Darmstadt, Alemania). El análisis de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) se realizó en un sistema de módulo de separación Waters 2695, equipado con un detector de matriz de fotodiodos Waters 996 y el software Empower Pro (Waters Corporation, EE. UU.). El análisis de cromatografía líquida de ultra rendimiento acoplado a un detector de masas (UPLC-MS) se realizó en Acquity UPLC (Waters, Milford MA, EE. UU.). Los huevos y las larvas infectantes expuestas a los compuestos bioactivos se observaron mediante microscopía óptica (Leica, modelo DMI8, Netzlar, Alemania), microscopía electrónica de barrido ambiental (ESEM, Zeiss, Evo LS10, Alemania) y microscopía de barrido láser confocal (CLSM, Carl Zeiss, Alemania).

Material vegetal: se recolectaron frutos maduros de *Acacia farnesiana* entre los meses de marzo y abril de 2017 en la localidad palmar grande, municipio de Tlatlaya, Estado de México, México, ubicado a (18° 33' 28.4" N y 100° 17' 3.5" W). Las plantas fueron taxonómicamente identificadas y depositadas en el herbario del Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM), bajo el código 3415. Las vainas colectadas fueron deshidratadas a la sombra por una semana y posteriormente trituradas a un tamaño de partícula de 4 a 6 mm con un molino eléctrico Wiley mill, (TS3375E15).

Obtención del extracto: Se utilizó 3.0 kg de vainas de *A. farnesiana* secas y trituradas y se puso en maceración con 30 L de solución de metanol al 30% a temperatura ambiente por 24 h. al final de este periodo el extracto fue filtrado con papel filtro Whatman® número 4 para remover los residuos

vegetales, posteriormente se eliminó el solvente por destilación con un Rotavapor (BUCHI, R-300, Suiza) a presión reducida con una temperatura de 50-55 °C para obtener un extracto hidroalcohólico (EHA) semisólido y finalmente se liofilizó (LABCONCO FREE ZONE 4.5 PLUS, USA), dando como resultado 37.5 g de un polvo marrón que se conservó a -40 ° C hasta su uso.

Fraccionamiento del extracto hidroalcohólico: se tomaron 20 g del EHA y se fraccionó mediante una bipartición usando 200 mL de agua (Merck, Alemania) y 200 mL de acetato de etilo, (Merck Alemania) para dar una fracción orgánica (F-AcOEt) y una fracción acuosa (F-Aq). Estas fracciones se evaporaron hasta secar por rotavapor a presión reducida, dando un residuo de 14,6 g de fracción acuosa y 5,4 g de fracción orgánica. Las pruebas farmacológicas mostraron actividad únicamente en la fracción AcOEt por lo que se procedió a la elucidación de sus compuestos. Se utilizaron 3,2 g de la fracción AcOEt que se fraccionó en una columna cromatográfica abierta (2,0 × 60 cm de diámetro interno) previamente empaquetada con gel de sílice en fase inversa (30 g, 40-63 µm, Merck, Alemania) y se eluyó con agua / acetonitrilo usando 10 % de polaridad descendiente. Se recogieron muestras de 50 ml para dar 27 fracciones. Todas las fracciones se concentraron en un evaporador rotatorio a presión reducida y se agruparon según su similitud mediante cromatografía en capa fina (TLC por sus siglas en inglés) en cuatro subfracciones: C1F1 (0,12 g), C1F2 (0,78 g), C1F3 (0,46 g) y C1F4 (0,13 g).

La fracción más activa en las pruebas farmacológicas (C1F3, 0,3 g) se purificó a través de una columna cromatográfica abierta similar. En este caso, se utilizó una columna de vidrio (1,5 × 30 cm) proporcionada por esta misma fase sólida (10 g, 40-63 µm, Merck, Alemania) y eluida con agua / acetonitrilo utilizando un sistema de polaridad descendente. Se recolectaron muestras de 20 mL y se analizaron por TLC para agrupar mezclas con los mismos constituyentes químicos.

Este proceso cromatográfico dio lugar a cinco subfracciones: C2F1 (63 mg), C2F2 (18 mg), C2F3 (95 mg), C2F4 (27 mg) y C2F5 (13 mg). La comparación por HPLC (Cromatografía líquida de alta eficacia) con varios estándares comerciales indicó que la fracción C2F1 estaba constituida principalmente por ácido gálico, galato de metilo y galato de etilo. Los principales compuestos encontrados en C2F2 fueron los flavonoides: naringina y naringenina 7-O- (4'', 6''-digaloilglucósido). Este último compuesto fue identificado por UPLC-MS a través de su patrón de fragmentación con los iones moleculares 170,94 [M + H]⁺; 184,95 [M + H]⁺; 199,01 [M + H]⁺; 581 [M + H]⁺ y 587.12 [M + H]⁺ respectivamente.

C2F3 mostró la mayor actividad en ambos modelos farmacológicos por lo que procedió a realizar su análisis químico que permitió identificar naringenina 7-O- (6"-galoilglucósido).

Finalmente, la fracción que no tubo actividad C2F4 corresponde con el flavonoide naringenina. La estructura química de los compuestos 6 y 7 se estableció mediante espectroscopía de RMN 1D y 2D.

Análisis HPLC-PDA: la separación química se logró utilizando una columna Supelcosil LC-F (4,6 mm x 250 mm, tamaño de partícula de 5 μ m) (Sigma-Aldrich, Bellefonte, EE. UU.). La fase móvil consistió en una solución acuosa de ácido trifloroacético al 0,5% (disolvente A) y acetonitrilo (disolvente B). El sistema de gradiente fue el siguiente: 0-1 min, 0% B; 2-3 min, B al 5%, 4-20 min, B al 30%; 21-23 min, 50% de B; 24-25 min, 80% de B; 26-27 100% B; 28-30 min, 0% B. La velocidad de flujo se mantuvo a 0,9 ml / min con un volumen de inyección de muestra de 10 μ L y una detección de rango de longitud de onda de 190-600 nm.

Análisis UPLC-MS: los compuestos principales en las fracciones activas se identificaron mediante análisis cromatográfico de líquidos usando un Acquity UPLC (Waters, Milford MA, EE.UU.). Este sistema de separación incluía una bomba cuaternaria, un horno de columna con muestreador automático y un detector-matriz de fotodiodos acoplado a un espectrómetro de masas triple cuádruple "Xevo" (Waters) equipado con una fuente de ionización por electropulverización (ESI) (Waters) calentada a 150 ° C. La temperatura de solvatación se fijó en 500 ° C y el flujo de gas de fue de 700 L / h de nitrógeno. Se utilizó argón como gas de colisión a una velocidad de flujo de 0,10 ml / min (Thermo Fisher Scientific, Bremen, Alemania). Las separaciones cromatográficas se realizaron empleando una columna Acquity UPLC BEH 1,7 m-C18 a una velocidad de flujo de 0,3 ml / min. La columna se eluyó con una solución acuosa de ácido trifloroacético al 0,1% (A) y trifloroacético al 0,1% en acetonitrilo (B). La columna se mantuvo al 100% de A durante 1 min y posteriormente se elevó en rampa al 100% de B durante 11 min, seguido de un período de 4 min al 100% de B antes de un rápido retorno al 100% de A, y un período de equilibrio de 2 min. La columna se mantuvo a una temperatura de 40 ° C. El volumen de inyección fue de 3 μ L y la absorbancia se midió en un rango de longitud de onda de 190 a 600 nm.

Análisis GC-MS: la composición química de la fracción C1F1 se realizó utilizando un cromatógrafo de gases Agilent Technology 6890 acoplado a un detector de masas 5973N, el modo de ionización es por el modo de impacto electrónico (IE) a 70 eV. Los compuestos volátiles se separaron en una columna capilar HP 5MS (25 m de largo, 0,2 mm de i.d., con un espesor de 0,3 μ m de espesor). La

temperatura del horno se fijó a 40 ° C durante 2 min, luego se programó de 40 a 260 ° C a 10 ° C / min y se mantuvo durante 20 min a 260 ° C y se utilizó helio a una velocidad de flujo de 1 ml / min como vehículo del gas. La identificación de los compuestos se realizó mediante la comparación de espectros de masas con los del Instituto Nacional de Estándares y Tecnología (NIST, 1.7 Biblioteca).

Material biológico: Se utilizaron huevos y larvas infectantes de *Haemonchus contortus* (L3), obtenidas de un ovino donador (25 kg PV) infectado artificialmente con 350 L3 por Kg de PV con la cepa INIFAP, México. El cordero fue alojado siguiendo las normas de cuidado y bien estar de la Norma Oficial Mexicana (NOM-051-ZOO-1995). La recuperación de huevos se realizó de acuerdo con la técnica descrita por Coles et al. (1995), las larvas infectantes fueron obtenidas de coprocultivos siguiendo la técnica de Baerman (Encalada-Mena et al., 2014).

6.2.1. Prueba de Inhibición de la eclosión de huevos (IEH)

Se utilizaron placas de micro titulación con 96 pozos con 12 repeticiones por tratamiento, los tratamientos consistieron en diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico (6.25 a 50 mg/mL), de las fracciones F-Aq y F-AcOEt (1.56 a 50 mg/mL), así como diferentes concentraciones de las subfracciones obtenidas de la fracción F-AcOEt (C1F1, C1F2, C1F3, C1F4, C2F1, C2F2, C2F3, C2F4, C2F5) (0.6 a 5 mg/mL). Los controles negativos consistieron en agua y metanol al 4% y como control positivo se utilizó thiabendazol (0.6 mg/mL). Para la IEH se depositaron 100±10 huevos suspendidos en 50 µL de agua destilada más 50 µL de la solución del extracto, fracción o Subfracción y su respectivo control para obtener un volumen final de 100 µL. Las placas se incubaron a temperatura ambiente (18-25 °C) durante 48 h, al final del periodo se detuvo el proceso de eclosión de huevos con solución de Lugol. La IEH se determinó contando el número de huevos sin eclosionar y número de larvas (huevos eclosionados) en alícuotas de 5 µL (n=10). El porcentaje IEH se calculó con la siguiente fórmula: % IEH = [(número de huevos) / (número de huevos + número de larvas)]*100 (Coles et al., 1992).

6.2.2. Prueba de mortalidad larvaria

Para la prueba de mortalidad se utilizaron placas de microtitulación de 96 pozos (n=12) para cada tratamiento. Los tratamientos consistieron en concentraciones seriadas del EH (6.25 a 50 mg/mL), F-

Aq y F-AcOEt (1.56 a 50 mg/mL) mientras que para los compuestos aislados de la fracción AcOEt (C1F1, C1F2, C1F3, C1F4, C2F1, C2F2, C 2F3, C2F4 C2F5) se utilizaron concentraciones que fueron de 0.6 a 5 mg/mL, además, para cada tratamiento se utilizó un control negativo de agua destilada y metanol al 4% y como control positivo se utilizó Ivermectina a razón de 5 mg/mL. Se depositó en cada pozo una cantidad de 150 ± 10 larvas infectantes suspendidas en 50 μ L y 50 μ L que contenían la dilución del EHA, las fracciones y los compuestos de los diferentes tratamientos hasta llegar a un volumen total de 100 μ L. las placas se incubaron a temperatura ambiente de 18 a 25 °C durante 48 h. Las lecturas se realizaron tomando alícuotas de 10 μ L de cada pozo y se contaron larvas vivas y larvas muertas, así mismo, el criterio para determinar el porcentaje de mortalidad se basó en la metodología de Olmedo-Juárez et al. (2017). Utilizando la siguiente formula: % mortalidad = [(número de larvas muertas) / (número de larvas vivas + número de larvas muertas)]*100.

6.2.3. Estudio óptico, de barrido laser con focal y microscopia electrónica de barrido ambiental de huevos y larvas infectantes de *H. contortus*

Los huevos y larvas expuestos a la fracción bioactiva se observaron mediante tres técnicas de microscopia diferentes: **1)** microscopia óptica: ambas muestras (huevos y larvas infectantes) se observaron con un microscopio óptico (Leica, modelo DMI8, Wetzlar, Alemania), y las imágenes se tomaron a 40X. **2)** microscopia de barrido laser confocal: consiste en el barrido mediante canales espectrales para detectar la autofluorescencia de los componentes de la muestra, en la que cada muestra tiene una longitud de onda de emisión diferente. La autofluorescencia utilizada para huevos y larvas infectantes fue de 530 a 550 nm, mientras que, para la fracción orgánica, todas las muestras se tomaron sin tinción y las imágenes se tomaron con un aumento de 630 X con un objeto plan-Apochomat 63X / 1,4 Oil DIC M27 (Carl Zeiss®, Alemania). **3)** microscopia electrónica de barrido ambiental: se realizó una evaluación de los cambios estructurales en la cutícula externa y las larvas infectantes mediante microscopia electrónica de barrido ambiental (Zeiss, Evo, LS10 Alemania). Se depositaron muestras de 10 μ L que contenían huevos sobre trozos de aluminio con cinta adhesiva de carbono de doble cara y se observaron directamente bajo microscopia electrónica sin ninguna preparación de la muestra, las imágenes fueron capturadas con un aumento de 1500 X, 20 kV, 10 Pa de presión de vapor de agua y almacenadas en formato TFF (Cárdenas y Pérez et al., 2017).

6.2.4. Análisis estadístico

Los datos de inhibición de la eclosión de huevos y porcentajes de mortalidad larvaria se normalizaron mediante la transformación de raíz cuadrada, y fueron analizados con un diseño completamente al azar mediante el análisis de varianza (ANOVA), utilizando el modelo general lineal GLM del programa SAS. Las variables dependientes fueron: extracto hidroalcohólico, fracciones acuosa y orgánica, subfracciones de la columna 1, subfracciones de la columna 2 y sus respectivos controles. La comparación de medias se realizó con la prueba de Tukey. El cálculo de las concentraciones letales (CL 50 y CL 90) se realizó con un análisis Probit, (SAS, 2006).

VII. RESULTADOS

Los resultados de esta investigación se presentan en dos artículos:

Artículo 1. Enviado para su revisión y arbitraje a la Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias

RESPUESTA PRODUCTIVA, CARACTERÍSTICAS DE LA CANAL Y CALIDAD DE LA CARNE DE OVINOS COMPLEMENTADOS CON HARINA DE FRUTOS DE *Acacia farnesiana*

Fwd: [RMCP] Envío recibido

ROLANDO ROJO RUBIO <rrojorubio@gmail.com>
Para: miguel albarran <mzarza762@gmail.com>

11 de octubre de 2022, 20:27

Miguel te envío el acuse, incorpóralo tal cual a la tesis y el paper final (Va adjunto)

----- Mensaje reenviado -----

De: Agustín Olmedo <aolmedoj@gmail.com>
Fecha: El mar, 11 de octubre de 2022 a la(s) 8:23 p.m.
Asunto: Fwd: [RMCP] Envío recibido
Para: <rrojorubio@gmail.com>

----- Forwarded message -----

De: Agustín Olmedo <aolmedoj@gmail.com>
Date: mar., 11 de octubre de 2022 8:19 p. m.
Subject: Fwd: [RMCP] Envío recibido
To: ROLANDO Rojo <rrojor@uaemex.mx>, miguel zarza <zarza2112angel@hotmail.com>

----- Forwarded message -----

De: OLMEDO JUAREZ AGUSTIN <olmedo.agustin@inifap.gob.mx>
Date: mar, 11 oct 2022 a las 20:18
Subject: RV: [RMCP] Envío recibido
To: aolmedoj@gmail.com <aolmedoj@gmail.com>



Dr. Agustín Olmedo Juárez
Investigador titular C
Centro de Nacional de Investigación Disciplinaria
en Salud Animal e Inocuidad
Teléfono: (55) 3871 8700 Ext. 80431

INIFAP – CENID-SAI, Morelos
Km. 15.5 Carretera Federal Cuernavaca-Cuautla No. 8534, Col.
Progreso, Jiutepec, Morelos, C.P. 62574

De: MVZ. Arturo García Fraustro <cienciaspecuarias@inifap.gob.mx>
Enviado: martes, 11 de octubre de 2022 20:16

Para: OLMEDO JUAREZ AGUSTIN
Asunto: [RMCP] Envío recibido

Agustín Olmedo-Juárez:

Hemos recibido y agradecemos el envío de su manuscrito 6337: "Respuesta productiva, características de la canal y calidad de la carne de ovinos complementados con harina de frutos de Acacia farnesiana" a la Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias. A través del sistema de gestión de revistas online usted podrá seguir su progreso del proceso editorial identificándose en el sitio web de la revista:

URL del manuscrito:

<https://cienciaspecuarias.inifap.gob.mx/index.php/Pecuarias/author/submission/6337>

Nombre de usuario/o: aolmedoj


Si tiene cualquier pregunta no dude en contactar con nosotros/as a cienciaspecuarias@inifap.gob.mx. Gracias por tener en cuenta nuestra revista para difundir su trabajo.

MVZ. Arturo García Fraustro
Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias

Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias
<https://cienciaspecuarias.inifap.gob.mx>

—
Dr. Agustín Olmedo Juárez
Investigador titular C
Centro de Nacional de Investigación Disciplinaria
en Salud Animal e Inocuidad
Teléfono: (55) 3871 8700 Ext. 80431

INIFAP – CENID-SAI, Morelos
Km. 15.5 Carretera Federal Cuernavaca-Cuautla No. 8534, Col. Progreso, Jiutepec, Morelos. C.P. 62574

 **Manuscript.docx**
91K

**Respuesta productiva, características de la canal y calidad de la carne de ovinos
complementados con harina de frutos de *Acacia farnesiana***

Miguel Ángel Zarza Albarran¹, Agustín Olmedo Juárez², Pedro Mendoza-de Gives², Jaime Mondragón Ancelmo¹, Javier Arece García³, Francisca Aviles-Nova¹, Benito Albarrán-Portillo¹, Rolando Rojo-Rubio^{1*}

¹Universidad Autónoma del Estado de México, Centro Universitario UAEM Temascaltepec, km 67.5 Carretera Federal Toluca–Tejupilco, Temascaltepec de González CP 51300, Estado de México, México.

²Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias, Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad, Carretera Federal. Cuernavaca-Cuautla No. 8534, Jiutepec CP 62550 Morelos, México.

³Universidad de Matanzas, Estación Experimental de Pastos y Forrajes Indio Hatuey. Central España Republicana, CP 44280, Matanzas, Cuba.

*Corresponding author. R Rojo-Rubio (dr_rojo70@yahoo.com.mx)

Resumen

La presente investigación evaluó el efecto de la inclusión de diferentes niveles de harina de frutos de *Acacia farnesiana* (HFAf) en dietas para ovinos en finalización. Se utilizaron 32 ovinos (Katahdin x Charollais) con peso vivo de 20 ± 2.5 kg y edad de 70 ± 15 d. Los tratamientos fueron cuatro niveles de HFAf (T0=0.0, T1=1.5, T2=3.0 y T3=4.5%). Se evaluó el crecimiento (21 d) y finalización (49 d). Se midió el peso vivo inicial y final (PVI y PVF), consumo de materia seca (CMS), ganancia diaria y total de peso (GDP y GTP) y eficiencia alimenticia (EA). En el día 70, los animales fueron sacrificados para determinar las características de la canal (CCa), medidas morfométricas (MMCa), peso de cortes primarios (PCPr), de vísceras (PVi), y parámetros de calidad de la carne (CCr). La adición de HFAf no afectó el CMS, tuvo efecto positivo sobre la GDP y GTP en la etapa de crecimiento ($P < 0.05$). Durante la finalización no se encontraron diferencias ($P > 0.05$) en las variables productivas. Los PCPr resultaron diferentes ($P < 0.05$) entre sí, T1 y T3 registraron los mayores pesos en lomo y cuello, respectivamente. Los CCr, muestran diferencias significativas sobre la fuerza de corte y capacidad de retención de agua a las 24 y 72 h. En el T1 se observó mejor ternura en la carne y en el T3 se observó una mayor pérdida de agua y mayor fuerza al corte. Se concluye que HFAf mejora la ganancia de peso y el rendimiento de los cortes primarios, por tanto, puede incluirse en dietas para ovinos en crecimiento y finalización bajo condiciones de corral.

Palabras clave: ovinos; inocuidad; calidad de carne, huizache

Productive response, carcass characteristics, and meat quality of lambs complemented with *Acacia farnesiana* fruit flour

Abstract

The present research tested the inclusion effect of different levels of *Acacia farnesiana* fruit flour (AfFF) in diets for finalization lambs. Thirty-two lambs (Crossbred Katahdin x Charollais), 70 ± 15 d old and with a body weight of 20 ± 2.5 kg were used. Treatments were four levels of AfFF (T0=0.0, T1=1.5, T2=3.0 y T3=4.5%). The growing (21 d) and finalization (49 d) were tested. The response variables were: initial and final live weight (ILW and FLW), dry matter consumption (DMC), daily and total weight gain (DWG and TWG) and feed efficiency (FE). On day 70, the animals were sacrificed to determine the carcass characteristics (CCa), morphometric measures (MMCa), primary cuts weight (PCW), of

viscera (ViW) and meat quality parameters (MQP). The AfFF addition did not affect the DMC, but had a positive effect on DWG and TWG in the growing phase ($P < 0.05$). For the finalization phase, it was no differences ($P > 0.05$) in the productive variables. The PCW resulted different among them, where T1 and T3 recorded the highest weight in tenderloin and neck, respectively. The MQP indicates significant differences in shear strength and water-holding capacity at 24 and 72 h. The T1 showed the best tenderness in sheep meat and in the T3 it was observed higher water loss and higher shear strength. The results indicate that the HFA improves the weight gain, the yield of primary cuts, thus, can be included in diets for growing, and finalization lambs feedlot conditions.

Keywords: sheep, safety, meat quality, huizache

Introducción

En la actualidad, los sistemas intensivos de producción ovina se ven afectados, debido al incremento en el costo de los insumos utilizados en la alimentación, como los ingredientes energéticos (maíz y sorgo) y proteínicos tales como soya y canola⁽¹⁾; situación que repercute en los costos de producción de los sistemas ovinos a pequeña escala ⁽²⁾. Ante esta situación, es necesario incorporar estrategias nutricionales que disminuyan el uso de insumos externos, como es el uso de recursos forrajeros locales provenientes de árboles⁽³⁾ y arbustos leguminosos ricos en proteína⁽⁴⁾, los cuales son capaces de seguir produciendo biomasa en condiciones de bajo contenido de humedad en el suelo⁽⁵⁾. *Acacia farnesiana* es una leguminosa arbustiva distribuida en climas tropicales y subtropicales de México⁽⁶⁾, esta especie vegetal representa una fuente de nutrientes principalmente de origen proteico⁽⁵⁾ y alta digestibilidad de la materia orgánica⁽⁷⁾, sus frutos son ricos en metabolitos secundarios (taninos condensados, flavonoides y compuestos polifenólicos), compuestos químicos que benefician la salud animal, al mejorar su rendimiento productivo y calidad de la carne⁽⁸⁻¹²⁾. Así mismo, se ha reportado que algunos metabolitos secundarios presentes en la *A. farnesiana* contienen propiedades antimicrobianas, antiinflamatorios, antioxidantes y antihelmínticas ⁽¹¹⁻¹³⁾. Existen evidencias que al adicionar niveles de inclusión de hasta 12% de frutos secos de *A. farnesiana* en dietas (BS) para ovinos no afectan los parámetros productivos⁽⁶⁾. El objetivo de la presente investigación fue evaluar la inclusión de diferentes niveles de la harina del fruto de *A. farnesiana* en dietas para ovinos durante el crecimiento y finalización sobre los parámetros productivos, características de la canal, cortes primarios, calidad de la canal y cambios de peso en vísceras.

Materiales y métodos

Comportamiento productivo

Sitio experimental

El estudio se realizó en la Unidad Metabólica del Centro Universitario UAEM Temascaltepec, localizado a 19° 2' 40" latitud norte y -100° 2' 42" longitud oeste, 1800 msnm, Temascaltepec de González, Estado de México, México. Con presencia de lluvias en verano y temperatura media anual de 18 °C ⁽¹⁴⁾.

Material vegetal

Frutos maduros de *A. farnesiana* se recolectaron en siete localidades diferentes (7 árboles por sitio) en el municipio de Tejupilco (latitud 18°90' 58" latitud norte y longitud -100°.15'27" longitud oeste), en la zona sur poniente del Estado de México, México, durante la primavera. Los frutos se colectaron durante la mañana (6 a 7 a.m.) y se trasladaron al Laboratorio de Nutrición Animal del Centro Universitario UAEM Temascaltepec donde fueron secados a la sombra hasta alcanzar peso constante y posteriormente fueron molidos en un molino de martillos (New Holland, 2315) a un tamaño de partícula de 5 mm.

Animales

Se utilizaron 32 ovinos machos cruzados (Katahdin x Charollais; PV de 20 ± 2.5 kg y edad de 70 ± 15 días), a su llegada a la Unidad Metabólica del Centro Universitario UAEM, Temascaltepec, fueron pesados para agruparlos de acuerdo a su peso de mayor a menor y así resultaron ocho bloques homogéneos de cuatro animales cada uno, cada animal fue alojado en una corraleta individual (0.8 x 1 m) la cual estaba equipada con comedero y bebedero, en cada bloque los tratamientos se asignaron de manera aleatoria, posterior a esto, los ovinos recibieron intramuscularmente 1 mL de Vigantol® ADE, equivalente a 250,000 UI de vitamina A, 37,500 UI de vitamina D3 y 25 mg de vitamina E y 2.5 ml de bacterina de 8 vías (BOBACT 8®) para la prevención de clostridiosis y neumonías.

Alimentación

Todos los animales recibieron una dieta basal para la etapa de crecimiento (15% PC y 2.9 Mcal/kg) y otra para finalización 14 % de PC y 3.0 Mcal/kg, de acuerdo a sus requerimientos nutricionales⁽¹⁵⁾. Ambas dietas se les realizó el análisis químico proximal⁽¹⁶⁾ y fraccionamiento de fibras⁽¹⁷⁾. La dieta se

suministró a tres frecuencias: 7:00, 13:00 y 19:00 h, bajo la siguiente proporción 30, 30 y 40 %. A todos los animales se les alimentó durante todo el experimento considerando su consumo voluntario, suministro de agua limpia y fresca *ad libitum*.

Periodos experimentales

La fase experimental tuvo una duración de 70 d; diez días fueron de adaptación a las jaulas, 21 d para el periodo de crecimiento y 49 d para finalización.

Tratamientos

Los tratamientos consistieron en diferentes niveles de harina de frutos secos de *A. farnesiana*: Control (0), T1: (1.5), T2: (3.0) y T3: (4.5), como porcentaje de la dieta basal (BS) en cada etapa.

Evaluación de la respuesta productiva

Después de los 10 días de adaptación a las jaulas y alimentación individual, los animales fueron pesados durante tres días consecutivos (previo ayuno) para conocer el peso vivo inicial (PVI), posteriormente se pesaron al día 21 (fase de crecimiento) y día 70 (periodo de finalización). Durante toda la fase experimental se registró el consumo de materia seca, ganancia de peso total, ganancia diaria de peso (kg) y eficiencia alimenticia.

Variables post-mortem

En el día 70 del periodo experimental los animales fueron trasladados a un rastro particular localizado en el municipio de Capulhuac, Estado de México, para su sacrificio basándose en la norma NOM-033-SAG/ZOO-2014 y Colomer-Rocher et al. ⁽¹⁸⁾.

Se registró el peso vivo de los animales a la salida de la granja y el peso vivo de llegada al rastro para estimar el rendimiento en granja (rendimiento en granja, %= (PV llegada en rastro, kg/PV salida a granja, kg)*100. Antes de sacrificar a los animales se registró el PV, para estimar el rendimiento comercial (%)= (canal caliente, kg/PV al sacrificio, kg)*100

Vísceras y subproductos

Una vez sacrificado el animal, se registró el peso de la sangre, piel, cabeza y patas. Vísceras rojas (corazón, hígado, pulmones y tráquea). Vísceras verdes vacías (rumen, retículo, omaso y abomaso,

intestinos grueso y delgado). Algunos órganos del sistema reproductor (testículos y pene), así como el peso de la grasa interna total de la cavidad torácica y abdominal.

Características y calidad de la canal

A los 45 minutos postmortem se registró el peso de la canal caliente (báscula digital portátil, Rhino), pH y temperatura (potenciómetro marca Hanna) del músculo *Longissimus dorsi* entre la 12 y 13 costilla⁽¹⁹⁾. Posteriormente la canal fue llevada a la cámara fría (4°C) para que a las 24 horas se registrara el peso de la canal fría, pH y temperatura. Se midió el color del músculo *Pectoralis profundus* y color de la grasa superficial del musculo glúteo medio, dicha variable fue evaluada por el sistema L* (luminosidad), a* (rojizo) y b* (amarillento)⁽²⁰⁾ con un colorímetro Minolta (Chroma Metro CR-200, Minolta Camera C., Osaka, Japón)⁽¹⁹⁾. Así mismo, se midió los grados GR, que indica la profundidad total del tejido (mm) entre la superficie de la canal y la costilla, sobre la región de la 12ª costilla y en un punto de 11 cm de la línea media; este indicador estima la grasa subcutánea: escasa o nula cobertura de grasa (GR de 0 a 4 mm), moderada cobertura de grasa (GR de 5 a 9 mm), abundante cobertura de grasa (GR de 10 a 15mm), excesiva cobertura de grasa (GR >15mm)⁽³⁸⁾. Entre la 12 y 13 costilla, se determinó el área del músculo *Longissimus dorsi*⁽²¹⁾.

Características morfométricas y cortes primarios de la canal

Utilizando la metodología de Cañeque et al.⁽¹⁹⁾ y Colomer-Rocher et al.⁽¹⁸⁾ se midió (cinta métrica) la longitud de la canal, perímetro de la grupa, largo de piernas y perímetro de las piernas. El ancho mayor y menor del tórax se midió con un compás métrico. Se realizaron cortes de acuerdo de piernas, cuello, espaldilla, rack, costillar y lomo de los cuales se registró el peso por separado con una báscula digital marca Torrey con precisión de 0.05 g⁽²²⁾.

Calidad de la carne

Una muestra de 100 g fue tomada del *Longimus dorsi*, para evaluar a las 24, 48 y 72 h la capacidad de retención de agua⁽²³⁾, el color de la carne se determinó mediante la metodología descrita por (Garrido et al.⁽²⁴⁾ y Cañeque et al.⁽¹⁹⁾. La fuerza de corte se midió con un (Texturómetro, TAXT2, Stable Microsystems Corp, NY, EE. UU.)^(25,26).

Diseño experimental y análisis de resultados

La información obtenida fue analizada a través de un diseño de bloques completos al azar mediante el procedimiento GLM del SAS ⁽²⁷⁾, tomando como factor de bloqueo el peso vivo inicial de los animales, también el peso vivo inicial (PVI) fue considerado como covariable en los análisis. La comparación de medias entre tratamientos se determinó con la prueba de Tukey, se declararon diferencias significativas cuando $P \leq 0.05$ y tendencias cuando $P \leq 0.1$.

Resultados

Comportamiento productivo

La adición de frutos molidos de *A. farnesiana* no modificó ($P \geq 0.05$) el consumo de MS en ambos periodos productivos evaluados, pero tuvo efecto positivo ($P \leq 0.05$) sobre la GDP, GTP y PVF en la etapa de crecimiento ($P < 0.05$), en la EA la inclusión de la harina de *A. farnesiana* tendió a ser mejor ($P = 0.1$) (Cuadro 3). Durante la etapa de finalización no se encontraron diferencias significativas o tendencias ($P > 0.1$) entre variables.

Características de la canal, cortes primarios y peso de las vísceras

Las características de la canal (Cuadro 4) y medidas morfométricas (Cuadro 5) no fueron afectadas por los tratamientos ($P > 0.05$). Mientras que para los cortes primarios (Cuadro 6), el T3 obtuvo el mayor registro en peso del cuello. La adición de harina del fruto de *A. farnesiana* mejoró ($P \leq 0.05$) el peso del lomo. Para las medidas viscerales (Cuadro 7) no se registraron cambios de peso ($P > 0.05$).

Calidad de la carne

En las variables de la calidad de la carne (Cuadro 8) se observaron diferencias ($P < 0.05$) sobre la capacidad de retención de agua a la hora 24 y 72 resultando con una menor pérdida de agua T1 con 6.76 %, mientras que T2 presentó el mayor escurrimiento con 8.99 % a las 72 h. La fuerza de corte también mostró diferencias significativas ($P < 0.05$), donde el T0 obtuvo una menor fuerza de corte en comparación de los otros tratamientos (Cuadro 8).

Discusión

Comportamiento productivo

Consumo de materia seca (CMS). El CMS es uno de los parámetros más críticos cuando se utilizan plantas con presencia de compuestos secundarios, ya que estos pueden modificar el nivel de ingesta de alimento. En este estudio la adición de harina de frutos de *A. farnesiana* no mostró diferencias significativas ($P > 0.05$) para este parámetro en las dos etapas productivas (Cuadro 2) ya que los niveles que se utilizaron fueron bajos. Los resultados encontrados en el presente estudio concuerdan con lo reportado por García-Winder et al.⁽⁶⁾, donde no reportan diferencias en el CMS para dietas con niveles de inclusión de frutos de *A. farnesiana* de 120 y 240 g/kg de MS, contrario a lo reportado por Velázquez et al.⁽²⁸⁾, donde la inclusión de 30% de frutos molidos en las dietas para ovinos aumenta el consumo voluntario. Por otra parte, Quiroz-Cardoso et al.⁽⁵⁾, en estudios con diferentes acacias, reportaron que la concentración de taninos condensados en frutos de *A. farnesiana* no influye sobre el consumo ni el índice de palatabilidad, pero la cantidad de fenoles totales sí afecta estos parámetros. Es importante mencionar que la concentración de compuestos secundarios en *A. farnesiana* es muy variable^(5,6) y depende del estado de madurez de los frutos, condiciones edafológicas y ambientales en que estas se desarrollan, naturaleza morfológica y química del tipo de compuesto⁽²⁹⁾. El consumo diario de materia seca en este estudio fue ligeramente mayor (1.53 kg) a lo reportado por Vázquez-Soria et al.⁽³⁰⁾ para esta craza de ovinos (1.45 kg). Los resultados reportados para este estudio se encuentran dentro de los rangos para corderos en crecimiento y finalización respectivamente⁽¹⁵⁾.

Ganancia de peso. Tanto la ganancia diaria de peso (GDP) como ganancia total de peso (GTP) en la etapa de crecimiento, fueron afectados positivamente por los tratamientos con inclusión de harina de *A. farnesiana*, mismos que fueron reflejados en el peso vivo final (PVF) de los animales para esta etapa productiva. La GDP encontrados en este estudio (260, 330, 330, 360 g/d) para el periodo de crecimiento y (330, 330, 350, 340 g/d) en la etapa de finalización para T0, T1, T2, T3 respectivamente, fueron ligeramente menor a lo reportado por Vázquez-Soria et al.⁽³⁰⁾, para esta craza (353 g/d). Sin embargo, fueron superiores (185 y 169 g/día) a los reportados en ovinos Pelibuey suplementados con frutos de *Guazuma ulmifolia*⁽³¹⁾, así como los resultados obtenidos por García-Winder et al.⁽⁶⁾ al incluir 12 % de frutos de *A. farnesiana* en la dieta de corderas Pelibuey en crecimiento con ganancias de 75 g/día. Esto podría deberse principalmente a el grupo racial utilizado, así como a los ingredientes que

conformaron la dieta, ya que los niveles de suplementación que usaron fueron elevados en comparación con lo utilizado en nuestro experimento.

Se ha reportado en la literatura que la presencia de compuestos secundarios en proporciones moderadas en la dieta, principalmente taninos condensados, puede alterar de manera positiva el comportamiento productivo de los animales mejorando la ganancia de peso debido a diferentes mecanismos de acción, tales como los complejos formados entre las proteínas y los taninos condensados⁽³²⁾ mejorando así el tránsito de proteína al tracto posterior donde pueden ser absorbidos después de la ruptura de los enlaces por acción de pH ácido del abomaso ^(33,34). Un mecanismo más puede ser la alteración que estos generan sobre las poblaciones bacterianas del rumen ya que pueden inhibir el crecimiento de protozoarios y bacterias fibrolíticas, a su vez estimular la proliferación de bacterias amilolíticas tales como, *Succinimonas amylolytica* y *Selenomonas ruminantium* productoras de propionato⁽³⁵⁾. Además, las adiciones de saponinas de algunas especies mejoran la eficiencia de síntesis de proteína microbiana conduciendo a un proceso de fermentación energéticamente de mayor eficiencia⁽³⁵⁾.

Características de la canal, cortes primarios y peso de las vísceras

La calidad de la canal es uno de los parámetros de mayor importancia a evaluar en los procesos de producción y comercialización de ovinos, ya que determina en gran medida el precio de venta.

Color de la canal. En el presente estudio el color de la canal resulto similar a lo reportados por Jaborek et al. ⁽³⁶⁾ para L* con 40.91, y superior a lo reportado por Al-Khalasi y Mahgoub ⁽³⁷⁾, en este sentido los valores de L* se ven afectados por la concentración de mioglobina misma que varía con la edad de los animales ⁽³⁶⁾, por el contrario, los valores de a* y b* difieren con lo reportado por Jaborek et al. ⁽³⁶⁾ y resultaron similares con Al-Khalasi y Mahgoub ⁽³⁷⁾. Esta variación en los resultados encontrados en este estudio y estudios previos se debe posiblemente a la edad de los animales y el tipo de alimentación⁽²²⁾.

Color de la grasa. El color de la grasa en este estudio no mostro diferencias significativas en los tratamientos con respecto al control, los valores encontrados para L* coinciden con lo reportado por Jaborek et al. ⁽³⁶⁾, por el contrario, los valores de a* que reporta este mismo autor (8.63) fueron mayores a los encontrados en este estudio. Los autores anteriormente mencionados, reportaron diferencias significativas con respecto a la dieta que consumieron los animales para este parámetro. Sin embargo,

especulan que el efecto se pudo deber al manejo de los animales durante el sacrificio. Los valores de b^* fueron ligeramente mayores en este estudio, ya que Jaborek et al. ⁽³⁶⁾ sugieren que los carotenoides y xantofilas presentes en los forrajes pueden provocar un color amarillento en la grasa, compuestos que posiblemente estuvieran presentes en los frutos de *A. farnesiana*.

PH. Los valores de pH (5.65-5.83) de la canal obtenidos en este estudio a las 24 h para en todos los tratamientos, fueron similares a los reportados por Jaborek et al. ⁽³⁶⁾ para ovinos de cruce Dorset x Hampshire. Mientras que resultaron ligeramente superiores a los observados por Partida de la Peña et al. ⁽³⁸⁾ y Al-Khalasi y Mahgoub ⁽³⁷⁾, quien es reportaron valores de pH promedio de 5.5 a las 24 h del sacrificio. La variación en este parámetro depende de diferentes factores como el manejo de los animales al momento del sacrificio, así como, la edad de los animales⁽³⁹⁻⁴¹⁾. Del mismo modo, algunos autores han reportado variación debido al tipo de dieta ya que canales provenientes de animales finalizados con dietas altas en grano pueden presentar valores más altos en comparación con animales que su dieta estuvo basada en forraje ⁽³⁶⁾.

Grasa dorsal. La cobertura de grasa en la canal es el principal factor que determina su valor comercial, ya que evita la desecación de la canal, influye sobre la terneza y jugosidad de la carne, así como en el caso de ovinos interfiere en el aroma y sabor de la carne ⁽²²⁾. La grasa dorsal obtenida en este experimento fue baja (2.43, 2.79, 3.26, 2.92 mm, respectivamente) en comparación con lo reportado por Vázquez-Soria et al. ⁽³⁰⁾, donde obtuvieron 6.33 mm. Esta característica es debida al peso de salida de los animales, lo que indica que se puede incrementar los pesos al sacrificio ⁽³⁰⁾. En este sentido, la norma mexicana para la clasificación de las canales permite hasta 6.9 mm de cobertura de grasa subcutánea en corderos pesados para poder ser considerado en la clasificación "MEX EXT".

Grados GR. El espesor de la grasa subcutánea dorsal es un parámetro objetivo altamente correlacionado con la mayoría de los tejidos tisulares de la canal, principalmente las tres piezas de mayor valor comercial⁽²²⁾. En este sentido, las mediciones del punto GR es otra alternativa que se relaciona con la cantidad de grasa en toda la canal y que además se facilita su implementación sin interferir en la línea de sacrificio de los animales⁽⁴²⁾. En este estudio no se encontraron diferencias estadísticas ($P>0.05$) para esta variable debido al efecto de los tratamientos (10.94, 12.06, 12.75, 12.48) para T0, T1, T2, T3, respectivamente, estos resultados se encuentran dentro de los rangos propuestos por Bianchi⁽⁴³⁾ para canales con peso de 18.5 a 22 kg.

Área del ojo de la chuleta. El músculo *Longissimus dorsi* es una de las variables más importantes para determinar la calidad de la canal, ya que está altamente correlacionado con la cantidad total de músculo de la misma y corresponde con el espinazo o rack y el lomo que son las piezas de mayor valor económico Vázquez-Soria ⁽³⁰⁾. En este estudio a pesar de que no se encontraron diferencias estadísticas ($P > 0.05$), se observa un aumento en los tratamientos en comparación con el control (Cuadro 4). Asimismo, los valores encontrados en nuestro estudio para este parámetro son mayores a los reportados en un estudio con ovinos de raza Katahdin (17.4 cm^2), así como a los datos promedios que reporta Partida de la Peña et al. ⁽³⁸⁾ para ovinos finalizados de forma intensiva, esto debido al genotipo de los animales estudiados.

Rendimientos de la canal. Los rendimientos encontrados en este estudio concuerdan en gran medida con Partida de la Peña et al. ⁽³⁸⁾ quienes reportaron un promedio del 50.9% de rendimientos de la canal para ovinos finalizados en sistemas intensivos, lo que coincide con lo encontrado en este estudio para el T0, los rendimientos de T1, T2 y T3 fueron superiores a lo reportado por estos autores. Por otra parte, Al-Khalasi y Mahgoub ⁽³⁷⁾, no encontraron diferencias estadísticas sobre el peso de la canal caliente y canal fría en ovinos suplementados con diferentes formas de procesamiento de vainas de *Prosopis juliflora*.

Cortes primarios. El rendimiento de los cortes primarios es un factor importante para la comercialización de la carne de ovinos cuando de cortes se trata, ya que cada uno de ellos recibe un valor diferente. En este estudio los pesos de los cortes primarios fueron similares ($P > 0.05$) para piernas, cuello, espaldilla, rack y costillas (Cuadro 6), lo que coincide con lo reportado por Rios-Rincón et al. ⁽⁴¹⁾ en ovinos Pelibuey alimentados con garbanzo de desecho y Gomes-Gurrola et al. (2017) en ovinos de pelo alimentados con diversas proporciones de *Tithonia diversifolia*. Sin embargo, en el peso del lomo se observaron diferencias estadísticas ($P < 0.05$) (Cuadro 6). El peso y el rendimiento de los cortes primarios se asocia con el peso al sacrificio y el sistema de alimentación⁽⁴⁴⁾.

Medidas morfométricas. Las mediciones correspondientes a este rubro concuerdan con lo reportado por otros autores ⁽³⁰⁾ para canales de cruce de Katahdin-Charollais y con Partida de la Peña et al. ⁽³⁸⁾ en canales de ovinos finalizados de forma intensiva. En este sentido estas variables no se vieron afectadas por los niveles de inclusión de vainas de *A. farnesiana*, ya que estas, dependen en gran medida de la raza y edad de los animales⁽³⁸⁾. Por otro lado, nuestros datos fueron similares a los

reportados por Al-Khalasi y Mahgoub ⁽³⁷⁾ quienes no encontraron diferencias significativas para estas variables en ovinos suplementados con frutos de *Prosopis juliflora*.

Visceras. Se cree que la carga de trabajo por la absorción más que la cantidad o las características de la digesta en el intestino delgado tiene un impacto importante en la masa intestinal, así como el peso, la textura o la composición química de la digesta afectan la masa del tracto gastrointestinal⁽⁴⁵⁾. En este estudio no se vio afectado el peso de las diferentes componentes del tracto digestivo, lo que concuerda con diferentes estudios que incluyeron suplementación con frutos de leguminosas^(37,46). El peso de los diferentes órganos (corazón, hígado, pulmones), no se afectó por la inclusión de harina de frutos de *A. farnesiana*, lo que nos indica que es un suplemento apto para el consumo de los animales. El peso de la grasa total resulto elevado esto debido a que se utilizaron dietas isoenergéticas e isoproteicas lo que resultó en la acumulación de grasa en los riñones y pericardio⁽⁴⁷⁾.

Calidad de la carne

La calidad de la carne engloba múltiples objetivos, el más importante de ellos es lograr un producto natural, inocuo y comercial, tomando en cuenta que los consumidores son cada vez más conscientes de los problemas que ocasiona el consumo excesivo de productos de origen rumiante, desde este punto de vista se han propuesto a productos elaborados a partir de plantas como alternativa para mejorar la calidad de la carne⁽⁴⁸⁾.

Color de la carne. Este parámetro es uno de los atributos considerados por los consumidores como indicadores de calidad de la carne⁽⁴⁹⁾, en las carnes rojas el color se ve afectado por los procesos oxidativos de la mioglobina lo que genera decoloración⁽⁵⁰⁾. En este estudio no se observaron diferencias significativas ($P > 0.05$) en los valores de L^* , a^* y b^* por los tratamientos que contenían frutos de *A. farnesiana*. Sin embargo, el tiempo de maduración afectó el color ($P < 0.05$), los valores observados para L^* fueron menores a los reportados por Smeti et al. ⁽⁴⁸⁾, los valores de a^* y b^* tendieron a aumentar en todos los tratamientos. Este comportamiento coincide con lo reportado por Luciano et al. ⁽⁴⁹⁾ para b^* , no obstante, el valor de a^* de nuestro estudio fue contrario a lo observado por estos autores. Esto podría deberse al tiempo de evaluación ya que la medición de estos parámetros la realizaron a los 11 días de maduración. Por su parte Smeti et al. ⁽⁵¹⁾ reportaron comportamiento similar para los valores de a^* al noveno día de maduración. Con el tiempo de almacenamiento los valores de b^* se correlacionan positivamente con la apreciación sensorial de la degradación de la carne mientras que a^* se correlaciona negativamente con la degradación sensorial de color⁽⁵²⁾.

Capacidad de Retención de Agua. Una de las principales características organolépticas de la carne es su jugosidad, que está relacionada con la capacidad de retención de agua, la cual se define como la capacidad de la carne fresca para retener su propia agua durante su procesamiento, almacenamiento y cocción ⁽⁵³⁾. Los resultados encontrados en este estudio muestran diferencias estadísticas para esta variable. Estudios previos por Ortiz-López et al. ⁽⁵⁴⁾ no encontraron efecto sobre esta variable al suplementar taninos condensados en la finalización de bovinos. Este parámetro se ve afectado drásticamente por diferentes factores como un descenso acelerado del pH ^(55, 56).

Fuerza de corte. La textura es una variedad de sensaciones relacionadas con la masticación, el corte y la penetración de la carne y es el parámetro más respetado por los consumidores ⁽⁵⁷⁾. Las diferencias encontradas en este estudio, muestran tendencia a aumentar la fuerza de corte conforme se incrementó los niveles de inclusión de frutos de *A. farnesiana*, resultados que difieren con lo reportado por Al-Khalasi y Mahgoub ⁽³⁷⁾ quienes no reportaron diferencias estadísticas sobre la fuerza de corte de ovinos suplementados con frutos de *Prosopis juliflora* (3.9 kg). Este parámetro se encuentra estrechamente relacionado con factores como la capacidad de retención de agua, el tejido conectivo y las fibras musculares⁽⁵⁸⁾.

Conclusiones

De acuerdo con los resultados obtenidos en este estudio, los frutos de *Acacia farnesiana* pueden ser incluidos en las dietas para ovinos en crecimiento y finalización, debido a que no se encontró efecto adverso sobre el consumo de materia seca, puede mejorar la ganancia de peso en la etapa de crecimiento, así como aumentar el peso de cortes de alto valor comercial como el lomo. A pesar de que la inclusión de frutos de *A. farnesiana* mostró efecto adverso sobre la fuerza de corte este se encuentra dentro de los rangos óptimos de una carne suave. El uso de los frutos de esta especie arbustiva representa una opción potencial como un alimento nutracéutico para mejorar la producción de rumiantes y reducir el uso de insumos alimenticios externos.

Conflicto de intereses

Los autores del presente trabajo declaran que no existe conflicto de intereses

Financiamiento

Este trabajo conto con financiamiento por la Universidad Autónoma del Estado de México bajo el proyecto UAEM 4585/2018/CIP. El primer autor recibió beca escolar por CONACyT México con número de referencia 577419.

Agradecimientos

El presente estudio forma parte del trabajo de tesis del M.C Miguel Ángel Zarza-Albarrán para obtener el grado de Doctor en Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales (Universidad Autónoma del Estado de México), bajo la dirección del Dr. Rolando Rojo-Rubio, Dr. Agustín Olmedo-Juárez y Dr. Jaime Mondragón Ancelmo.

Referencias

1. Chetroui R. Results and potential in the economic efficiency of breeding young sheep for meat. Scientific Papers: Management, Economic Engineering in Agri Rural Develop 2020; 20(2):127-132.
2. Vasta V, Luciano G. The effects of dietary consumption of plants secondary compounds on small ruminants' products quality. Small Rum Res 2011; 101:150–159.
3. Haile, Tolemariam T The feed values of indigenous multipurpose trees for sheep in Ethiopia: The case of Vernonia amygdalina, Buddleja polystachya and Maesa lanceolata. Livestock Res Rural Develop 2008; 20(3):1-7.
4. Degen AA, El-Meccawi S, Kam M. Cafeteria trials to determine relative preference of six desert trees and shrubs by sheep and goats. Livestock Sci 2010;132(1-3):19-25.
5. Quiroz-Cardoso F, Rojas-Hernández S, Olivares-Pérez J, Hernández-Castro E, Jiménez-Guillén R, Córdova-Izquierdo A, Villa-Mancera A, Abdel-Fattah S. Composición nutricional, consumo e índices de palatabilidad relativa de los frutos de tres acacias en la alimentación de ovejas y cabras. Arch Med Vet 2015; 47(1): 33-38.
6. García-Winder LR, Goñi-Cedeño S, Olguín-Lara PA, Díaz-Salgado G, Arriaga-Jordán CM. Huizache (*Acacia farnesiana*) whole pods (flesh and seeds) as an alternative feed for sheep in Mexico. Trop Anim Health Prod 2009;41(8):1615-21.
7. Barrientos-Ramírez L, Vargas-Radillo JJ, Rodríguez-Rivas A, Ochoa-Ruíz HG, Navarro-Arzate F, Zorrilla J. Evaluación de las características del fruto de huizache (*Acacia farnesiana* (L.) Willd.) para su posible uso en curtiduría o alimentación animal. Madera y Bosques 2012;18(3).

8. Cuchillo HM, Puga DC, Wrage-Mönning N, Espinosa MJG, Montañó BS, Navarro-Ocaña A, *et al.* Chemical composition, antioxidant activity and bioactive compounds of vegetation species by goats on semiarid rangelands. *J Anim Feed Sci* 2013;22:106–115.
9. Sosa-Pérez G, López-Ortiz S, Pérez-Hernández P, Cortez-Romero C, Gallegos-Sánchez J. Uso de frutos tropicales (Fabaceae) para complemento alimenticio de pequeños rumiantes. *Agro productividad* 2017;10(2):37-41.
10. Qin S, Hou D. The biofunctions of phytochemical and their application in farm animals: the Nrf2/Keap 1 system as target. *Engineering* 2017;(3):738-752.
11. Zarza-Albarrán MA, Olmedo-Juárez A, Rojo-Rubio R, Mendoza-de Gives P, González-Cortazar M, Tapia-Maruri D, *et al.* Galloyl flavonoids from *Acacia farnesiana* pods possess potent anthelmintic activity against *Haemonchus contortus* eggs and infective larvae. *J. Ethnopharmacol* 2020;249:12402.
12. Olmedo-Juárez A, Zarza-Albarrán MA, Rojo-Rubio R, Zamilpa A, González-Cortazar M, Mondragón-Ancelmo J, *et al.* *Acacia farnesiana* pods (plant: Fabaceae) possesses anti-parasitic compounds against *Haemonchus contortus* in female lambs. *Exp Parasitol* 2020;218:7.
13. Delgadillo Puga C, Cuchillo-Hilario M, Espinosa-Mendoza GE, Medina-Campos O, Molina-Jijón E, Díaz Martínez M, *et al.* Antioxidant activity and protection against oxidative-induced damage of *Acacia* and *Acacia farnesiana* pods extracts: *in vitro* and *in vivo* assays. *BMC Compleme Altern Med* 2015;15:435.
14. García E. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. 4ª ed. Instituto de Geografía. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F; 1988.
15. NRC. Nutrient requirements of small ruminants, sheep, goats, cervids, and New World camelids. Animal Nutrition Series. The National Academy Press. Washington, DC, USA; 2007 Pp. 362.
16. AOAC (Association of Official Analytical Chemists). Official Methods of Analysis, 16th edition. AOAC, Arlington, VA, USA; 1997.
17. Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch carbohydrates in relation to animal nutrition. *J Dairy Sci* 1991;74: 583- 597.
18. Colomer-Rocher F, Morand-Fehr P, Kirton AH. Standard methods and procedures for goat carcass evaluation, jointing and tissue separation. *Livestock Prod Sci* 1987;17:49-159.

19. Cañeque V, Pérez C, Velasco S, Diaz MT, Lauzurica S, Álvarez I, *et al.* Carcass and meat quality of light lambs using principal component analysis. *Meat Sci* 2004;67(4):595-605.
20. Centre Internationale de L'Éclairage Colorimetry (2nd ed.). Vienna: Publication CIE no 15.2; 1986.
21. Rust RE, Olson DG, Kratzer DD, Schuler RO, Vetter RL. M. Longissimus area of lamb carcasses—a Comparison of four measurement techniques and the evaluation of operator differences. *J Anim Sci* 1970;30(1):36-39.
22. Ruiz de Huidobro F, Miguel E, Cañeque V, Velasco S. Clasificación y conformación de la canal ovina. En: estandarización de las metodologías para evaluar la calidad del producto (animal vivo, canal, carne y grasa) en los rumiantes. Monografías INIA: serie ganadera; 2005: 143-169.
23. Torres M. Capacidad de retención de agua. En: estandarización de las metodologías para evaluar la calidad del producto (animal vivo, canal, carne y grasa) en los rumiantes. Monografías INIA: serie ganadera.; 2005:243-250.
24. Garrido MD, Bañón S, Álvarez D. Medida del PH. En: estandarización de las metodologías para evaluar la calidad del producto (animal vivo, canal, carne y grasa) en los rumiantes. Monografías INIA: serie ganadera.; 2005:206-215.
25. Bratzler LJ. Determining the tenderness of meat by use of the Warner-Bratzler method. In *Proc Recip Meat Conf* 1949;2:117-121.
26. Beltrán JA, Roncales P. Determinación de la textura. En: estandarización de las metodologías para evaluar la calidad del producto (animal vivo, canal, carne y grasa) en los rumiantes. Monografías INIA: serie ganadera; 2005:237-242.
27. SAS, SAS Online Doc Version 9.1.3.SAS, NC. USA, Cary.: 2014
28. Velázquez AJ, González M, Perezgrovas R, Bórquez J, Domínguez I. Producción, digestibilidad y rentabilidad en corderos de dietas con vainas de *Acacia farnesiana*. *Arch Zootec* 2011;60 (231):479-88.
29. Musharaf K, Farrukh H. Palatability and animal preferences of plants in Tehsil Takht-e-Nasrati, District Karak, Pakistan. *African J Agric Res* 2012;7(44):5858-72.
30. Vázquez-Soria ET. Méndez-Medina D. Comportamiento productivo y características de la canal en corderos provenientes de la cruce de ovejas Katahdin con machos de cuatro razas cárnicas especializadas. *Rev Mex Cienc Pecu* 2011;2(3):247-258

31. Gómez-Gurrola A, Partida-Hernández M, Ramírez-Duran R, Ramírez-Ramírez JC, Gómez-Gurrola JA, González-Mormita M, *et al.* Efecto de la inclusión del fruto de *Guazuma ulmifolia* como sustituto de maíz en la dieta sobre el comportamiento productivo y rendimiento en canal de ovinos pelibuey. *Trop Subtrop Agroeco* 2014;17: 215 – 222.
32. Cortés JE, Moreno B, Pabón ML, Ávila P, Kreuzer M, Hess HD, *et al.* Effects of purified condensed tannins extracted from *Calliandra*, *Flemingia* and *Leucaena* on ruminal and postruminal degradation of soybean meal as estimated *in vitro*. *Ani Feed Sci and Technol* 2009;151:194–204.
33. Dentinho TP, Belo AT, Bessa RJB. Digestion, ruminal fermentation and microbial nitrogen supply in sheep fed soybean meal treated with *Cistus ladanifer* L. tannins. *Small Rum Res* 2014;119:57–64.
34. Orlandi T, Kozloski GV, Alves TP, Mesquita FR, Ávila SC. Digestibility, ruminal fermentation and duodenal flux of amino acids in steers fed grass forage plus concentrate containing increasing levels of *Acacia mearnsii* tannin extract. *Ani Feed Sci Technol* 2015;210:37–45.
35. Castro-Montoya JM, Makkar HPS, Becker K. Chemical composition of rumen microbial fraction and fermentation parameters as affected by tannins and saponins using an *in vitro* rumen fermentation system. *Can J Anim Sci* 2011;91: 433-448.
36. Jaborek JR, Zerby HN, Moeller SJ, Wick MP, Fluharty FL, Garza III H, *et al.* Effect of energy source and level, and animal age and sex on meat characteristics of sheep. *Small Rum Res* 2018;166:53–60.
37. Al-Khalasi S, Mahgoub O. Carcass and meat quality characteristics of Omani sheep fed diets based on raw or processed mesquite (*Prosopis juliflora*) Pods. *J Vet Sci Ani Husb* 2018;6(2): 206.
38. Partida de la Peña JA, Ríos-Rincón FG, De la Cruz-Colín L, Domínguez-Vara IA, Buendía-Rodríguez G. Caracterización de las canales ovinas producidas en México. *Rev Mex Cien Pecu* 2017;8(3):269-277.
39. Beriain MJ, Purroy A, Treacher T, Bas P. Effect of animal and nutritional factors and nutrition on lamb meat quality. *Sheep and goat nutrition: Intake, digestion, quality of products and rangelands*, 2000;75-86.
40. McGeehin B, Sheridan JJ, Butler F. Factors affecting the pH decline in lamb after slaughter. *Meat Sci* 2001;58(1):79-84.

41. Knapik J, Ropka-Molik K, Pieszka M. Genetic and nutritional factors determining the production and quality of sheep meat—a review. *Annals Anim Sci* 2017;17(1):23-40.
42. Kirton AH, Feistand CL, Duganz DM. Prediction of ewe mutton carcass composition from carcass weight, GR and C measurements, and the Hennessy grading probe. *Proce New Zealand Soc Anim Prod* 1986;46:59-61.
43. Bianchi J. Un vistazo al sistema de tipificación de canales ovinas y su relación con la calidad del producto. *El país agropecuario*; 2008:26-29.
44. Ríos-Rincón FG, Barragán HB, Cerrillo-Soto MA, Estrada-Angulo A, Juárez-Reyes AS, Obregón JF, *et al.* Carcass characteristics, primal cut yields and tissue composition of Katahdin x Pelibuey lambs fed cull-chickpeas. *Rev Mex Cienc Pecu* 2012;3(3):357-371.
45. Yamazaki A, Choki S, Kakizaki T, Matsuura A, Irimajiri M, Hodate K. Comparison of passage rate, structure and motility of the reticulo-rumen in two sheep breeds. *Ruminant physiology: Digestion, metabolism and effects of nutrition on reproduction and welfare*; 2009:404.
46. Mireles EJ, Rodríguez D, Jordán H, Valdivia M, Ramírez A, García A, *et al.* Profile of fatty acids of *Longissimus dorsi* muscle and productive indicators of sheep, supplemented with pods of *Acacia cochliacantha*, in grasslands native to dry tropics. *Cuban J Agri Sci*; 2015;49 8(3).
47. Preziuso G, Russo C, Casarosa L, Campodoni G, Piloni S, Cianci D. Effect of diet energy source on weight gain and carcass characteristics of lambs. *Small Ruminant Research*, 1999;3(1):9-15.
48. Pannier L, Gardner GE, Pearce KL, McDonagh M, Ball AJ, Jacob RH, *et al.* Associations of sire estimated breeding values and objective meat quality measurements with sensory scores in Australian lamb. *Meat Sci* 2014;6(2):1076-1087.
49. Tomasevic I, Djekic I, Fonti-Furnols M, Terjung N, Lorenzo JM. Recent advances in meat color research. *Curr Opin Food Sci* 2021;41:81-87.
50. Li X, Zhang Y, Li Z, Li M, Liu Y, Zhang D. The effect of temperature in the range of -0.8 to 4°C on lamb meat color stability. *Meat Sci* 2017;134:28-33.
51. Smeti S, Atti N, Mahouachi M, Munoz F. Use of dietary rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oils to increase the shelf life of Barbarine light lamb meat. *Small Rum Res* 2013;113: 340–345.
52. Luciano G, Monahan FJ, Vasta V, Biondi L, Lanza M., Priolo A. Dietary tannins improve lamb meat colour stability. *Meat Sci* 2009;81:120–125.

53. Kamruzzaman M, Makino Y, Oshita S. Hyperspectral imaging for real-time monitoring of water holding capacity in red meat. *LWT - Food Sci Technol* 2016;66:685-691.
54. Ortiz-López B, Mariezcurrena-Berasáin MA, Barajas-Cruz R, López-Perea P, Escalona-Buendía HB, Borquez-Gastelum JL, *et al.* Influence of tannins on the physical and sensory attributes of meat from feedlot cattle. *Rev Mex Cienc Pecu* 2016;7(3):309-320.
55. Jandasek J, Milerski M, Lichovnikova M. Effect of sire breed on physico-chemical and sensory characteristics of lamb meat. *Meat Sci* 2014;96(1):88-93.
56. Zhang Y, Luo H, Chen Y, Yan L, Chang Y, Jiao Lm, *et al.* Effects of liquorice extract on the pH value, temperature, drip loss, and meat color during aging of *Longissimus dorsi* muscle in Tan sheep. *Small Rum Res*, 2013;13(1):98-102.
57. Holman BWB, Alvarenga TI, Van de Ven RJ, Hopkins DL. A comparison of technical replicate (cuts) effect on lamb Warner–Bratzler shear force measurement precision. *Meat Sci* 2015;105:93-95.
58. Albarracín W, Sánchez I, Restrepo L. Análisis sensorial de la textura en la maduración de la carne de cordero de pelo. *Vitae* 2016;23(Supl. 1).

Cuadro 1. Dietas experimentales para ovinos en crecimiento y finalización adicionadas con diferentes niveles de harina de frutos de *Acacia farnesiana*

| Ingredientes (%) | Crecimiento | | | | Finalización | | | |
|--|-------------|----------|----------|----------|--------------|----------|----------|----------|
| | T0 (0.0) | T1 (1.5) | T2 (3.0) | T3 (4.5) | T0 (0.0) | T1 (1.5) | T2 (3.0) | T3 (4.5) |
| Maíz rolado | 38.0 | 37.3 | 36.5 | 35.5 | 50.0 | 50.0 | 50.0 | 50.0 |
| Pasta de saya | 9.0 | 9.0 | 9.0 | 9.0 | 7.0 | 7.0 | 7.0 | 7.0 |
| Pasta de canola | 6.0 | 6.0 | 6.0 | 6.0 | 7.5 | 7.5 | 7.5 | 7.5 |
| Sorgo entero | 9.0 | 9.0 | 9.0 | 9.0 | 9.3 | 8.5 | 7.5 | 6.5 |
| Harina del fruto de <i>Acacia farnesiana</i> | 0.0 | 1.5 | 3.0 | 4.5 | 0.0 | 1.5 | 3.0 | 4.5 |
| Melaza | 8.0 | 8.0 | 8.0 | 8.0 | 8.0 | 8.0 | 8.0 | 8.0 |
| Urea | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| Heno de alfalfa | 22.5 | 21.7 | 21 | 20.5 | 10.0 | 9.3 | 8.8 | 8.3 |
| Rastrojo de maíz | 5.0 | 5.0 | 5.0 | 5.0 | 5.0 | 5.0 | 5.0 | 5.0 |
| Premezcla mineral | 2.0 | 2.0 | 2.0 | 2.0 | 2.0 | 2.0 | 2.0 | 2.0 |
| Carbonato de calcio | | | | | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 |
| Sal común | | | | | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 |

Cuadro 2. Composición química (%) de las dietas experimentales y harina de los frutos de *Acacia farnesiana*

| Nutriente (%) | Dietas crecimiento | | | | Dietas finalización | | | | A. <i>farnesiana</i> |
|---------------|--------------------|-------------|-------------|-------------|---------------------|-------------|-------------|-------------|----------------------|
| | T0 (0.0) | T1 (1.5) | T2 (3.0) | T3 (4.5) | T0 (0.0) | T1 (1.5) | T2 (3.0) | T3 (4.5) | |
| MS | 91.89 | 91.99 | 91.95 | 91.84 | 91.65 | 91.39 | 91.64 | 91.03 | 87.54 |
| PC | 15.17 | 15.45 | 15.35 | 15.06 | 14.32 | 14.04 | 14.12 | 14.08 | 12.52 |
| EE | 3.81 | 3.85 | 3.38 | 3.96 | 4.06 | 4.36 | 4.14 | 4.04 | 3.27 |
| FDN | 25.08 | 29.31 | 33.06 | 34.62 | 19.12 | 20.08 | 20.46 | 22.37 | 38.80 |
| FDA | 21.25 | 24.86 | 26.67 | 28.76 | 16.31 | 17.43 | 16.87 | 18.46 | 34.22 |
| MO | 89.8 | 90.20 | 90.05 | 90.20 | 91.10 | 91.40 | 91.10 | 90.60 | 91.30 |

MS materia seca, PC proteína cruda, EE extracto etéreo, FDN fibra detergente neutro, FDA fibra detergente ácido, MO materia orgánica.

Cuadro 3. Comportamiento productivo de ovinos durante el crecimiento y finalización recibiendo diferentes niveles de harina de frutos de *Acacia farnesiana* en su alimentación

| Etapa/Tratamiento | Niveles de adición de frutos de <i>A. farnesiana</i> | | | | EEM | P | |
|-------------------|--|--------------------|---------------------|---------------------|--------------------|------|------|
| | (%) | | | | | | |
| | T0 (0.0) | T1 (1.5) | T2 (3.0) | T3 (4.5) | | | |
| Crecimiento | PVI (kg) | 22.87 | 22.94 | 22.79 | 22.76 | | |
| | PVF (kg) | 28.36 ^b | 29.95 ^{ab} | 29.83 ^{ab} | 30.43 ^a | 0.44 | 0.02 |
| | CMS (kg) | 1.50 | 1.53 | 1.49 | 1.62 | 0.17 | 0.45 |
| | GDP (kg) | 0.26 ^b | 0.33 ^{ab} | 0.33 ^{ab} | 0.36 ^a | 0.05 | 0.02 |
| | GTP (kg) | 5.52 ^b | 7.10 ^{ab} | 6.99 ^{ab} | 7.59 ^a | 1.25 | 0.02 |
| | EA (%) | 0.17 ^b | 0.22 ^a | 0.22 ^a | 0.22 ^a | 0.04 | 0.10 |
| Finalización | PVI (kg) | 28.05 | 29.28 | 29.65 | 30.91 | | |
| | PVF (kg) | 45.69 | 45.70 | 46.88 | 46.23 | 2.79 | 0.81 |
| | CMS (kg) | 1.52 | 1.50 | 1.50 | 1.63 | 0.17 | 0.52 |
| | GDP (kg) | 0.33 | 0.33 | 0.35 | 0.34 | 0.05 | 0.82 |
| | GTP (kg) | 16.29 | 16.28 | 17.45 | 16.82 | 2.78 | 0.82 |
| | EA (%) | 21 | 21 | 23 | 21 | 3.30 | 0.65 |

Diferente literal en el mismo renglón indica diferencias estadísticas ($P > 0.05$), EEM error estándar de la media, PVI peso vivo inicial, PVF peso vivo final, CMS consumo de materia seca, GDP ganancia diaria de peso, GTP ganancia total de peso, EA eficiencia alimenticia

Cuadro 4. Características de la canal de ovinos finalizados en corral adicionados con diferentes niveles de harina de frutos de *Acacia farnesiana*.

| Variable/Trat | Niveles de adición de frutos de <i>A. farnesiana</i> (%) | | | | EEM | P |
|-----------------------------|--|----------|----------|----------|------|------|
| | T0 (0.0) | T1 (1.5) | T2 (3.0) | T3 (4.5) | | |
| Características de la canal | | | | | | |
| RG | 46.63 | 48.35 | 48.37 | 48.50 | 2.03 | 0.24 |
| RC | 50.93 | 52.70 | 52.87 | 52.81 | 1.95 | 0.17 |
| L* canal | 38.72 | 39.22 | 40.17 | 41.52 | 2.90 | 0.26 |
| a* canal | 10.45 | 12.43 | 10.42 | 10.20 | 2.03 | 0.13 |
| b* canal | 8.15 | 9.94 | 6.02 | 7.24 | 2.90 | 0.09 |
| L* grasa | 70.92 | 69.62 | 69.62 | 70.65 | 3.05 | 0.75 |
| a* grasa | 1.72 | 1.68 | 2.18 | 2.20 | 0.82 | 0.45 |
| b* grasa | 10.39 | 10.67 | 10.97 | 11.03 | 1.25 | 0.73 |
| pH45 | 6.61 | 6.62 | 6.60 | 6.49 | 0.17 | 0.44 |
| pH24 | 5.83 | 5.66 | 5.65 | 5.80 | 0.21 | 0.26 |
| T°45 | 28.34 | 29.18 | 28.82 | 29.60 | 1.48 | 0.39 |
| T°24 | 1.72 | 2.43 | 2.06 | 2.31 | 1.03 | 0.54 |
| Grasa dorsal | 2.43 | 2.79 | 3.26 | 2.92 | 0.88 | 0.34 |
| Grados GR | 10.94 | 12.06 | 12.75 | 12.48 | 2.89 | 0.62 |
| AOCh | 21.9 | 23.7 | 23.0 | 22.7 | 2.71 | 0.64 |

RG rendimiento de la granja, RC rendimiento comercial, AOCh área del ojo de la chuleta

Cuadro 5. Medidas morfométricas de canales de ovinos finalizados en corral adicionados con harina de frutos de *Acacia farnesiana*

| Variable/Trat | Niveles de adición de frutos de <i>A. farnesiana</i> (%) | | | | EEM | P |
|---------------|--|----------|----------|----------|------|------|
| | T0 (0.0) | T1 (1.5) | T2 (3.0) | T3 (4.5) | | |
| PCC | 21.75 | 23.11 | 23.29 | 23.29 | 1.65 | 0.22 |
| PCF | 21.19 | 22.44 | 22.65 | 22.61 | 1.67 | 0.27 |
| LC | 66.27 | 65.07 | 66.52 | 66.69 | 2.01 | 0.39 |
| LP | 35.56 | 34.58 | 36.23 | 34.89 | 1.81 | 0.30 |
| DP | 41.14 | 41.49 | 43.33 | 42.33 | 1.97 | 0.16 |
| PG | 61.62 | 62.18 | 63.18 | 59.49 | 5.12 | 0.54 |
| AG | 21.34 | 22.05 | 21.85 | 22.00 | 1.04 | 0.52 |
| AMT | 23.47 | 24.45 | 23.59 | 24.51 | 1.73 | 0.50 |
| ANT | 19.23 | 19.67 | 19.54 | 19.53 | 0.91 | 0.80 |

Diferente literal en el mismo renglón, indica diferencias estadísticas, EEM error estándar de la media, PCC peso de la canal caliente, PCF peso de la canal después de 24 h de refrigeración, LC largo de la canal, LP largo de la pierna, DP diámetro de la pierna, PG perímetro de la grupa, AG ancho de la grupa, AMT ancho mayor del tórax, ANT ancho menor del tórax.

Cuadro 6. Peso de los cortes primarios de corderos adicionados con diferentes niveles de harina de frutos de *Acacia farnesiana*

| Variable/Trat | Niveles de adición de frutos de <i>A. farnesiana</i> (%) | | | | EEM | P |
|---------------|--|-------------------|--------------------|--------------------|------|------|
| | T0 (0.0) | T1 (1.5) | T2 (3.0) | T3 (4.5) | | |
| Piernas | 6.74 | 7.09 | 6.65 | 7.18 | 1.14 | 0.75 |
| Cuello | 1.01 ^b | 0.98 ^b | 1.02 ^b | 1.3 ^a | 0.18 | 0.09 |
| Espaldilla | 6.07 | 6.44 | 7.01 | 6.91 | 1.24 | 0.43 |
| Rack | 1.98 | 2.11 | 2.12 | 2.12 | 0.33 | 0.82 |
| Costillas | 3.51 | 3.34 | 3.29 | 3.26 | 0.50 | 0.75 |
| Lomo | 1.88 ^b | 2.32 ^a | 2.17 ^{ab} | 2.16 ^{ab} | 0.25 | 0.01 |

Diferente literal entre columnas indica diferencias estadísticas

Cuadro 7. Pesos de las viscerales de ovinos finalizados en corral adicionados con harina de frutos molidos de *A. farnesiana*.

| Variable/Trat | Niveles de adición de frutos de <i>A. farnesiana</i> (%) | | | | EEM | P |
|------------------------|--|----------|----------|----------|-------|------|
| | T0 (0.0) | T1 (1.5) | T2 (3.0) | T3 (4.5) | | |
| Pesos de vísceras (kg) | | | | | | |
| Corazón | 0.18 | 0.18 | 0.18 | 0.18 | 0.01 | 0.39 |
| Hígado | 1.19 | 0.96 | 0.81 | 1.03 | 0.22 | 0.20 |
| Pulmones | 0.53 | 0.47 | 0.55 | 0.53 | 0.07 | 0.27 |
| Tráquea | 0.11 | 0.21 | 0.10 | 0.11 | 0.15 | 0.47 |
| Panza* | 1.20 | 1.22 | 1.28 | 1.36 | 0.16 | 0.22 |
| Intestinos | 2.59 | 2.47 | 2.54 | 2.65 | 0.43 | 0.85 |
| Testículos | 0.29 | 0.36 | 0.30 | 0.37 | 0.09 | 0.24 |
| Pene | 0.04 | 0.04 | 0.03 | 0.03 | 0.009 | 0.85 |
| Sangre | 1.68 | 1.56 | 1.47 | 1.59 | 0.22 | 0.39 |
| Piel | 3.76 | 3.80 | 4.13 | 3.90 | 1.05 | 0.89 |
| Cabeza | 1.94 | 1.92 | 1.93 | 1.96 | 0.09 | 0.77 |
| Patas | 1.03 | 1.02 | 1.00 | 1.00 | 0.03 | 0.84 |
| Grasa total | 1.74 | 1.77 | 1.92 | 1.94 | 0.49 | 0.80 |

Cuadro 8. Parámetros de calidad de la carne de ovinos finalizados en corral suplementados con harina de frutos de *A. farnesiana*.

| Variable/Trat | Hora | Niveles de adición de frutos de <i>A. farnesiana</i> | | | | EEM | P |
|---------------|------|--|--------------------|-------------------|--------------------|-------|------|
| | | (%) | | | | | |
| | | T0 (0.0) | T1 (1.5) | T2 (3.0) | T3 (4.5) | | |
| L* carne | | 29.45 | 28.93 | 28.29 | 28.00 | 2.42 | 0.64 |
| a* carne | H0 | 8.45 | 8.03 | 8.29 | 7.68 | 1.20 | 0.60 |
| b* carne | | 9.04 | 8.70 | 8.80 | 8.36 | 1.19 | 0.72 |
| L* carne | | 33.22 | 32.69 | 32.6 | 31.134 | 2.87 | 0.51 |
| a* carne | H24 | 8.35 | 9.06 | 9.13 | 8.80 | 1.59 | 0.75 |
| b* carne | | 10.90 | 11.10 | 10.20 | 9.80 | 2.38 | 0.67 |
| L* carne | | 32.83 | 32.96 | 32.45 | 32.15 | 2.35 | 0.90 |
| a* carne | H48 | 9.61 | 10.26 | 10.67 | 10.31 | 1.27 | 0.42 |
| b* carne | | 11.27 | 11.59 | 12.17 | 11.71 | 1.54 | 0.71 |
| L* carne | | 32.03 | 32.30 | 30.93 | 31.33 | 1.88 | 0.48 |
| a* carne | H72 | 9.61 | 10.26 | 10.67 | 10.31 | 1.01 | 0.13 |
| b* carne | | 12.56 | 12.49 | 13.17 | 12.36 | 1.38 | 0.66 |
| | H24 | 2.19 ^{ab} | 2.34 ^{ab} | 3.28 ^a | 1.75 ^b | 0.911 | 0.02 |
| CRA | H48 | 4.71 | 4.39 | 5.55 | 3.88 | 1.38 | 0.14 |
| | H72 | 7.95 ^{ab} | 6.76 ^b | 8.99 ^a | 7.61 ^{ab} | 1.19 | 0.01 |
| FC | | 3.07 ^b | 3.60 ^{ab} | 4.79 ^a | 3.74 ^{ab} | 0.93 | 0.01 |

Diferente literal en la misma línea indica diferencias estadísticas, CRA capacidad de retención de agua, FC fuerza de corte.

**Artículo 2. Artículo científico aceptado y publicado en la revista Journal of Ethnopharmacology
“Galloyl flavonoids from *Acacia farnesiana* pods possess potent anthelmintic activity against
Haemonchus contortus eggs and infective larvae”.**



Galloyl flavonoids from *Acacia farnesiana* pods possess potent anthelmintic activity against *Haemonchus contortus* eggs and infective larvae



M.A. Zarza-Albarrán^{a,b}, A. Olmedo-Juárez^{a,*}, R. Rojo-Rubio^b, P. Mendoza-de Givés^a,
M. González-Cortazar^c, D. Tapia-Maruri^d, J. Mondragón-Ancelmo^b, C. García-Hernández^b,
Ever A. Blé-González^e, A. Zamilpa^{c,*}

^a Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad, Carr. Fed. Cuernavaca-Cuautla No. 8534, Jiutepec, Morelos, Mexico

^b Centro Universitario UAEM Temascaltepec, Universidad Autónoma del Estado de México, Km 67.5 Carr. Fed. Toluca-Tejupilco, Temascaltepec, Mexico, Mexico

^c Instituto Mexicano del Seguro Social, Centro de Investigación Biomédica del Sur, Argentina No. 1, Xochitepec, Morelos, Mexico

^d Departamento de Biotecnología, Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, Instituto Politécnico Nacional, Carretera Yauteppec-Jojutla Km 6, calle CEPROBI N°8, Col. San Isidro, Yauteppec, Morelos, C.P. 62731, Mexico

^e Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Carretera Cunduacán-Jalpa Km. 0.5, 86690, Cunduacán, Tabasco, Mexico

ARTICLE INFO

Keywords:

Acacia farnesiana
Flavonoids
Galloylglucoside
Haemonchus contortus
Nematocidal properties

Compounds studied:

Naringin
(PubChem CID 442428)
naringenin
(PubChem CID 932)
gallic acid
(PubChem CID 370)
ethyl gallate
(PubChem CID 13250)
methyl gallate
(PubChem CID 7428)

ABSTRACT

Ethnopharmacology relevance: *Acacia farnesiana* (L.) Willd is a shrub legume used as condiment, medicinal plant and bioactive herbage. This species is used in traditional medicine of several countries to relieve the symptoms of gastrointestinal diseases, diarrhoea, stomach pain and typhoid as well as astringent, antidiarrhetic and anthelmintic. Some studies have shown that this plant displayed anthelmintic activity against several gastrointestinal nematode parasites of livestock, and also against parasites of human beings, such as malaria.

Aim of the study: This work describes the isolation and chemical identification of the anthelmintic compounds of *Acacia farnesiana* pods against eggs and infective larvae of the sheep parasitic nematode *Haemonchus contortus*. The bio-guided chemical fractioning of *A. farnesiana* pods using ethyl acetate against *H. contortus* eggs and infective larvae allowed for the identification of naringenin 7-O-(6"-galloyl)glucoside (flavonol group) as the compound responsible for the anthelmintic activity against this important parasitic nematode.

Materials and methods: Anthelmintic activity was assessed using the egg hatching inhibition assay (EHI) and mortality tests. A complete hydroalcoholic extract (HA-E) at 12.5–50 mg/mL, an aqueous fraction (Aq-F) at 3.12–25 mg/mL and an ethyl acetate fraction (EtOAc-F) at 3.12–25 mg/mL were analysed in the first selection phase. The purification of compounds through the chromatographic separation of the organic fraction resulted in nine less complex mixtures (C1F1, C1F2, C1F3, C1F4, C2F1, C2F2, C2F3, C2F4 and C2F5) that were assessed at 0.62–5 mg/mL concentrations. In addition, thiabendazole (0.6 mg/mL) and ivermectin (5 mg/mL) were used as positive controls. Likewise, distilled water and 4% methanol were used as negative controls. The bioactive compounds of EtOAc-F were obtained and characterised through chromatographic processes like open column chromatography, thin layer chromatography (TLC), high performance liquid chromatography (HPLC), ultra-performance liquid chromatography (UPLC) and mass chromatography-mass detection (GC-MS). Bioactive compounds were identified by spectroscopy (¹H and ¹³C NMR) and mass spectrometric analysis. Additionally, the *H. contortus* eggs and infective larvae exposed to the bioactive compounds were observed through environmental scanning electron microscopy (ESEM) and confocal laser scanning microscopy (CLSM). Data were analysed based on a completely randomised design using ANOVA through a general linear model.

Results: The EtOAc-F fraction showed the highest ovicidal and larvicidal activities, at close to 100% at 3.12 and 6.25 mg/mL, respectively. The treatments C1F2, C1F3 and C2F3 displayed the main ovicidal activity (80–100%) at 2.5 mg/mL. The major compounds found in these sub-fractions were identified as galloyl derivatives and

Abbreviations: Aq-F, aqueous fraction; CLSM, confocal laser scanning microscopy; EHI, egg hatching inhibition; ESEM, environmental scanning electron microscopy; EtOAc-F, ethyl acetate fraction; HA-E, hydroalcoholic extract; HPLC-PDA, high performance liquid chromatography coupled to a photo array detector; NMR, nuclear magnetic resonance; NP-PEG, natural products polyethylene glycol reagent; TLC, thin layer chromatography; UPLC-MS, ultra-performance liquid chromatography coupled to a mass detector; UV, ultra violet

* Corresponding author.

** Corresponding author.

E-mail addresses: olmedo.agustin@inifap.gob.mx (A. Olmedo-Juárez), azamilpa_2000@yahoo.com.mx (A. Zamilpa).

<https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112402>

Received 5 October 2018; Received in revised form 26 August 2019; Accepted 12 November 2019

Available online 15 November 2019

0378-8741/ © 2019 Elsevier B.V. All rights reserved.

flavonones, including gallic acid (1), methyl gallate (2), ethyl gallate (3), naringin (4), naringenin 7-O-(4", 6"-digalloylglucoside) (5), naringenin 7-O-(6"-galloylglucoside) (6) and naringenin (7). Likewise, the ESEM and CLSM images showed that the assessed compounds adhered to the eggshell and the external cuticle of the larvae. **Conclusion:** These results indicate that *A. farnesiana* pods contain nematocidal compounds and might be promising natural anthelmintic agents against *H. contortus*. This leguminous plant could be used as a nutraceutical food source for the control of gastrointestinal nematodes in small ruminants.

1. Introduction

Ruminants maintained under grazing conditions in tropical, subtropical and temperate zones are exposed to different genera of gastrointestinal parasitic nematodes, like *Haemonchus*, *Cooperia*, *Trichostrongylus* and *Teladorsagia*, that severely affect both the health and productivity of small ruminants (Roeder et al., 2013; Harder, 2016). *Haemonchus contortus* is one of the most pathogenic parasites that affects the health of small ruminants (Harder, 2016). Currently, there are few anthelmintic drugs for controlling the nematodiasis to livestock. The excessive use of these drugs is leading to increased occurrence of anthelmintic resistance (Gasbarre, 2014; Fiel et al., 2017). This imminent situation has spread worldwide and these parasites cause considerable economic losses to the livestock industry (Rodríguez-Vivas et al., 2017). Additionally, the frequent and continuous use of synthetic drugs represents a public health problem due to toxic residues in animal products/subproducts destined for human consumption (Daeseleire et al., 2017). On the other hand, imminent ecological damage is a continuous threat because synthetic anthelmintic contaminants are eliminated into the environment by treated animals (Cooke et al., 2017).

The search for biologically active plant compounds has attracted the interest of researchers looking for new sources of potential new drugs for the control of gastrointestinal nematodes (Wangchuck et al., 2016a; Klongsiriwet et al., 2015; Brito et al., 2018). The use of plants containing phenolic compounds, such as tannins, caffeoyl and coumaroyl derivatives and quercetin may provide alternatives for controlling gastrointestinal nematodiasis. Some leguminous trees, such as *Lysiloma acapulcensis* (García-Hernández et al., 2017; González-Cortazar et al., 2018), *Leucaena leucocephala* (Mejía-Hernández et al., 2014) and *Acacia cochliacantha* (Castillo-Mitre et al., 2017; Olmedo-Juárez et al., 2017), are a rich source of secondary metabolites and may be used as natural anthelmintics.

Acacia farnesiana (L.) Willd is a shrub legume commonly known in Mexico as "huizache". This species is used in traditional medicine of several countries in form of infusion for the treatment of different symptoms and diseases; i.e., diarrhoea, stomach pain and typhoid. It has been used as astringent, antidiarrhoeic and anthelmintic (García-Barriga, 1992; Jiménez, 2012; Juárez-Vázquez et al., 2013; Khare, 2007). According to the literature, compounds from the leaves and pods of this plant have been reported to have important biological activities as antioxidants and antimicrobials (García et al., 2006; Ramil et al., 2011; Delgadillo-Puga et al., 2018). A recent study assessed with different extracts from *A. farnesiana* fruits showed that several flavonoids and gallic acid displayed an important antibacterial activity (Hernández-García et al., 2018). On the other hand, *A. farnesiana* bark extract has shown antimalarial activity against *Plasmodium falciparum*, an important parasite that threatens public health (Garavito et al., 2006). In Mexico, huizache leaves and whole pods have been used as an extra nutritional supplement in the food of sheep and goats (Ramírez and Ledezma-Torres, 1997; García-Winder et al., 2009). So far, there are few studies about the phytochemical composition and biological activities of *A. farnesiana* pods. Thus, the objective of this study was to assess the *in vitro* anthelmintic activity of *A. farnesiana* pods against *H. contortus* eggs and infective larvae, and also to identify the compounds responsible for this activity.

2. Materials and methods

2.1. General

All chemicals used in this study were analytical-reagent grade. Ethanol, methanol, dimethyl sulphoxide (DMSO), distilled water, acetonitrile, 2 aminoethyl diphenylborinate, ethyl gallate (> 96%, CS), gallic acid (> 99%, CS), naringenin (> 95%, CS), naringin (> 90%, CS) were purchased from Sigma-Aldrich (MO, USA). Materials and reagents for biological model assays (EHI %) were purchased from Corning® (NY, USA). The natural product, polyethylene glycol reagent (NP-PEG; 1% methanol solution of diphenylboryloxyethylamine, followed by ethanol polyethylene glycol) was used as a chemical detection reagent (Wagner and Bladt, 2001).

All nuclear magnetic resonance (NMR) spectra were recorded on Bruker Advance III HD-600 at 600 MHz for ¹H NMR, ¹H-¹H COSY, HSQC and HMBC and 150 MHz for ¹³C NMR and DEPT in CD₃OD and DMSO-*d*₆. Chemical shifts are reported in ppm relative to tetramethylsilane (TMS). Mass spectroscopy analysis was performed on a Waters Xevo TQD mass spectrometer with an ESI ion source (Waters Milford, USA). The ultraviolet (UV) spectra were obtained using a Waters array detector (Waters Co. 2996, Milford, USA). Thin-layer chromatography (TLC) was performed using TLC Silica gel 60, F₂₅₄, and 20 × 20 cm aluminium sheets (Merck KGaA, Darmstadt, Germany). The high-performance liquid chromatography (HPLC) analysis was performed on a Waters 2695 Separation module system, equipped with a Waters 996 photodiode array detector and Empower Pro software (Waters Corporation, USA). The ultra-performance liquid chromatography coupled to a mass detector (UPLC-MS) analysis was performed on Acquity UPLC (Waters, Milford MA, USA). Nematode eggs and infective larvae exposed to the bioactive compounds were observed through optical microscopy (Leica, DMi8 model, Netzlar, Germany), environmental scanning electron microscopy (ESEM, Zeiss, Evo LS10, Germany) and confocal laser scanning microscopy (CLSM, Carl Zeiss, Germany).

2.2. Plant material

Acacia farnesiana pods were harvested from Palmar Grande, in the Tlatlaya municipality, in the state of Mexico, Mexico (18°43'28.4" N and 100°17'03.5" W). Mature pods were collected between March and April 2017. One plant specimen was deposited in the herbarium of the Centre for Research in Biodiversity and Conservation, Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM - Mexico), under voucher code number 3415. The dried pods were ground using an electrical miller (Wiley mill, TS3375E15 model) to reduce the pod size to 4–6 mm.

2.3. Hydroalcoholic plant extraction

The dried material (3.0 kg) was extracted by maceration using 30 L of a hydroalcoholic solution (30% ethanol) at room temperature for 24 h. After this period, the liquid extract was filtered using filter paper (Whatman® 4). Hydroalcoholic extract (HA-E) was concentrated using a rotary evaporator (50–55 °C, Büchi R-300, Switzerland) under reduced pressure to obtain a semisolid extract, which was finally freeze-dried, resulting in 37.5 g (12.5%) of a brown powder. The HA extract was stored at –40 °C until pharmacological or phytochemical analysis.

2.4. Hydroalcoholic extract fractionation

The HA extract (20 g) was fractionated through a bipartition using water (200 mL, Merck, Germany) and ethyl acetate (200 mL, Merck) to give an organic fraction (EtOAc-F) and a high polar mixture (Aq-F). These fractions were evaporated until dry by rota-evaporation under reduced pressure, yielding a residue of 14.6 g of aqueous fraction and 5.4 g of organic fractions. The EtOAc mixture (3.2 g) was fractionated in an open chromatographic column (2.0 × 60 cm internal diameter) previously packed with silica gel reverse phase (30 g, 40–63 μm, Merck, Germany) and eluted with water/acetonitrile using 10% descendant polarity. Samples of 50 mL were collected to give 27 fractions. All fractions were concentrated in a rotary evaporator under reduced pressure and grouped according to their similarity by thin layer chromatography (TLC) into four sub-fractions: C1F1 (0.12 g), C1F2 (0.78 g), C1F3 (0.46 g) and C1F4 (0.13 g).

The most active fraction (C1F3, 0.3 g) was purified through a similar open chromatographic column. In this case, a glass column (1.5 × 30 cm) provided by this same solid phase (10 g, 40–63 μm, Merck, Germany) and eluted with water/acetonitrile using a descendant polarity system was used. Samples of 20 mL were collected and analysed by TLC in order to group mixtures with the same chemical constituents. This chromatographic process led to five sub-fractions: C2F1 (63 mg), C2F2 (18 mg), C2F3 (95 mg), C2F4 (27 mg) and C2F5 (13 mg). HPLC comparison with several commercial standards indicated that fraction C2F1 was constituted by gallic acid (1), methyl gallate (2) and ethyl gallate (3) principally. The main compounds found in C2F2 were the flavonoids: naringin (4) and naringenin 7-O-(4", 6"-digalloylglucoside) (5). This last compound was identified by UPLC-MS through its fragmentation pattern with the molecular ions 170.94 [M+H]⁺; 184.95 [M+H]⁺; 199.01 [M+H]⁺; 581 [M+H]⁺ and 587.12 [M+H]⁺ respectively (supplementary date). C2F3 displayed the highest activity on both pharmacological models (Table 2). Chemical analysis of this fraction allowed to identify naringenin 7-O-(6"-galloylglucoside) (6). Finally, the non-active fraction C2F4 corresponds with the flavonoid naringenin (7). The chemical structure of compounds 6 and 7 were established by 1D and 2D NMR spectroscopy.

Naringenin 7-O-(6"-galloylglucoside)(6): ¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD); δ 5.33 (1H, dd, 3.3, 12.4, H-2), 3.11 (1H, dd, 12.8, 17.2, H-3a), 2.74 (1H, dd, 2.3, 17.2, H-3b), 6.14 (1H, d, 2.2, H-6), 6.15 (1H, d, 2.2, H-8), 7.24 (2H, d, 8.4, H-2', H-6'), 6.79 (2H, d, 8.4, H-3', H-5'), 5.02 (1H, d, 7.3, H-1"), 3.5 (3H, m, H-2", H-3", H-4"), 3.76 (1H, dd, 2.2, 5.8, 8.4, H-5"), 4.59 (1H, dd, 2.2, 12.1, H-6a"), 3.70 (1H, dd, 5.8, 12.1, H-6b"), 7.05 (2H, s, H-2", H-6"); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD); δ 80.5 (C-2), 43.9(C-3), 198.5 (C-4), 164.9 (C-5), 98.1 (C-6), 166.8 (C-7), 96.8 (C-8), 164.6 (C-9), 105.1 (C-10), 131.0 (C-1'), 129.2 (C-2'), 116.4 (C-3'), 159.0 (C-4'), 116.4 (C-5'), 129.2 (C-6'), 101.0 (C-1"), 74.7 (C-2"), 77.7 (C-3"), 71.6 (C-4"), 75.8 (C-5"), 64.6 (C-6"), 121.5 (C-1"), 110.4 (C-2"), 146.5 (C-3"), 139.9 (C-4"), 146.5 (C-5"), 110.4 (C-6"), 168.4 (C-7").

Naringenin (7): ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-D₆); δ 5.42 (1H, dd, 3.3, 12.8, H-2), 3.11 (1H, dd, 12.4, 16.8, H-3a), 2.74 (1H, dd, 2.9, 17.2, H-3b), 5.86 (2H, s, H-6, H-8), 7.3 (2H, d, 8.4, H-2', H-6'), 6.78 (2H, d, 8.4, H-3', H-5'); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO); δ 78.5 (C-2), 42 (C-3), 196.4 (C-4), 163.6 (C-5), 96 (C-6), 167 (C-7), 95.2 (C-8), 163 (C-9), 101.8 (C-10), 129 (C-1'), 128.4 (C-2'), 115.3 (C-3'), 158.1 (C-4'), 115.3 (C-5'), 128.4 (C-6').

2.5. HPLC-PDA analysis

Chemical separation was achieved using a Supelcosil LC-F column (4.6 mm × 250 mm i.d., 5-μm particle size) (Sigma-Aldrich, Bellefonte, USA). The mobile phase consisted of 0.5% trifluoroacetic acid aqueous solution (solvent A) and acetonitrile (solvent B). The gradient system was as follows: 0–1 min, 0% B; 2–3 min, 5% B, 4–20 min, 30% B; 21–23 min, 50% B; 24–25 min, 80% B; 26–27 100% B; 28–30 min, 0%

B. The flow rate was maintained at 0.9 mL/min with a sample injection volume of 10 μL and wavelength range detection of 190–600 nm.

2.6. UPLC-MS analysis

The major compounds in the active fractions were identified by liquid chromatographic analysis using an Acquity UPLC (Waters, Milford MA, USA). This separation system included a quaternary pump, autosampler column oven and a photodiode array-detector coupled to a triple quadrupole mass spectrometer "Xevo" (Waters) equipped with an electrospray ionisation (ESI) source (Waters) heated at 150 °C. The desolvation temperature was set at 500 °C and the desolvation gas flow was 700 L/h nitrogen. Argon was used as a collision gas at a flow rate of 0.10 mL/min (Thermo Fisher Scientific, Bremen, Germany). Chromatographic separations were performed employing an Acquity UPLC BEH 1.7 m-C18 column at a flow rate of 0.3 mL/min. The column was eluted with 0.1% trifluoroacetic acid aqueous solution (A) and 0.1% trifluoroacetic acid in acetonitrile (B). The column was held at 100% of A for 1 min and subsequently ramped to 100% of B (curve 6) over 11 min, followed by a 4 min period at 100% of B before a rapid return to 100% of A, and an equilibration period of 2 min. The column was maintained at a temperature of 40 °C. Injection volume was 3 μL and absorbance was measured at a wavelength range of 190–600 nm.

2.7. GC-MS analysis

The chemical composition of the fraction C1F1 was performed using a Gas Chromatograph Agilent Technology 6890 coupled to a 5973N mass detector, the ionisation mode is by Electronic Impact (IE) mode at 70 eV. Volatile compounds were separated on a HP 5MS capillary column (25 m long, 0.2 mm i.d., with 0.3-μm film thickness). Oven temperature was set at 40 °C for 2 min, then programmed from 40 to 260 °C at 10 °C/min and maintained for 20 min at 260 °C and helium at a flow rate of 1 mL/min was used as carrier gas. The identification of the compounds was made with the comparison of mass spectra with those of the National Institute of Standards and Technology (NIST, 1.7 Library).

2.8. Biological material

Haemonchus contortus eggs and infective larvae were obtained from a parasitised lamb acting as a parasite donor (25.4 kg bodyweight, BW). This lamb was artificially infected with *H. contortus* infective larvae (350 infective larvae/kg BW, INIFAP strain, Mexico). The lamb was housed following the care/welfare and no unnecessary suffering standard regulations of the Mexican Official Rule NOM-051-ZOO-1995. Egg recovery was performed according to the technique described by Coles et al. (1992). Infective larvae were obtained from faecal cultures using the Baermann technique (Encalada-Mena et al., 2014).

2.9. Egg hatching inhibition (EHI) bio-guided test

The assay was performed using 96-well micro-titration plates with 12 repetitions of each treatment. One hundred parasite eggs were placed in 50 μL of distilled water and 50 μL of the extract, and fractions or proper controls were deposited into each well, for a final volume of 100 μL. Treatments were established according to the following sequential steps: Step 1) hydroalcoholic extract (HA-E) at 6.25–50 mg/mL; Step 2) aqueous fraction (Aq-F) and ethyl acetate fraction (EtOAc-F) at 1.56–50 mg/mL; Step 3) sub-fractions obtained from EtOAc-F (C1F1, C1F2, C1F3, C1F4, C2F1, C2F2, C2F3, C2F4 and C2F5) at 0.6–5 mg/mL concentrations. For each treatment, two proper negative controls were included: distilled water and 4% methanol. Additionally, thiabendazole (0.6 mg/mL) was used as a positive control. The plates were incubated at room temperature (18–25 °C) for 48 h. The egg hatching process was stopped using Lugol's solution. The criteria for

estimating the EHI included the counting of either the non-hatched eggs or larvae in ten 5- μ L aliquots ($n = 10$). The hatched egg percentages were estimated for each treatment group using the following formula: % EHI = [(number of eggs)/(number of larvae + number of eggs)] \times 100 (Coles et al., 1992).

2.10. Bio-guided test for assessing larval mortality

The assay was performed using 96-well micro-titration plates ($n = 12$) for each treatment. Treatments were designed with the HA-E using serial concentrations (at 6.25–50 mg/mL), Aq-F and EtOAc-F fractions (at 1.56–50 mg/mL). Meanwhile, the compounds isolated from the EtOAc-F bioactive fraction: C1F1, C1F2, C1F3, C1F4, C2F1, C2F2, C2F3, C2F4 and C2F5) were tested at 0.68–5 mg/mL. Each treatment was assessed using a negative control (distilled water and 4% methanol) and an anthelmintic (ivermectin, 5 mg/mL) as a positive control. Fifty microlitres of an aqueous suspension containing 150 *H. contortus* larvae were deposited into each well. Then, 50- μ L aliquots of extract, fractions and compounds, as well as controls, were individually deposited into each well. The plates were incubated at room temperature (18–25 °C) for 48 h. Ten 10- μ L aliquots were taken from each well to count larvae, dead or alive. The criteria for estimating the mortality percentage was based on Olmedo-Juárez et al. (2017), using the following formula: % mortality = [(number of dead larvae)/(number of living larvae + number of dead larvae)] \times 100.

2.11. Optical, confocal laser scanning (CLMS) and environmental scanning electron microscopy (ESEM) study of *Haemonchus contortus* eggs and infective larvae

Eggs and larvae exposed to the bioactive fraction were observed through three different microscopy techniques. 1. *Optical microscopy*: Both biological samples were observed with an optical microscope (Leica, DMi8 model, Wetzlar, Germany); images were captured at 40 \times magnification. 2. *Confocal laser scanning microscopy (CLSM)*: This involves scanning using spectral channels in order to detect the auto-fluorescence of the sample components (organic fraction, eggs and infective larvae), in which each sample had a different emission wavelength. The auto-fluorescence used for eggs and infective larvae was 530–550 nm, meanwhile it was 550–600 nm for the organic fraction. All samples were observed without any staining and the images were captured at 630 \times magnification with a Plan-Apochomat objective 63 \times /1.4 Oil DIC M27 (Carl Zeiss®, Germany). 3. *Environmental scanning electron microscopy (ESEM)*: An evaluation of the microstructural changes on the external cuticle and infective larvae was performed by means of environmental scanning electron microscopy (Zeiss, Evo LS10, Germany). Ten-microlitre samples containing eggs were deposited onto slices on aluminium stubs with double-sided carbon adhesive tape and were observed directly under electron microscopy without any sample preparation. The images were captured at 1500 \times magnification, 20 kV, 10 Pa water vapour pressure and stored in TIFF format (Cárdenas-Pérez et al., 2017).

2.12. Statistical analysis

The data of egg hatching inhibition and mortality percentages were normalised using a square root transformation and analysed based on a completely randomised design using an analysis of variance (ANOVA) in the general linear model (GLM) in SAS. The dependent variables were: hydroalcoholic extract, both aqueous and organic fractions, column 1 sub-fractions, column 2 sub-fractions and their proper controls. Tukey's test was performed to identify significant differences among treatments. Likewise, the lethal concentrations (LC₅₀ and LC₉₀) were estimated using a Probit analysis (SAS, 2006).

Table 1
Haemonchus contortus egg hatching inhibition and infective larvae mortality effect caused by an *Acacia farnesiana* hydroalcoholic extract and two fractions.

| Treatment | Biological activity | |
|--------------------------------------|--|---|
| | Egg hatching inhibition (EHI% \pm s.d) | Infective larvae mortality (Mortality% \pm s.d) |
| Hydroalcoholic extract (HA-E, mg/mL) | | |
| 50 | 100 ^a | 72.50 \pm 8.50 ^c |
| 25 | 99.78 \pm 0.43 ^a | 12.90 \pm 4.66 ^d |
| 12.5 | 49.07 \pm 7.74 ^b | 11.65 \pm 5.92 ^d |
| 6.25 | 10.04 \pm 2.41 ^c | 9.77 \pm 4.61 ^d |
| Aqueous fraction (Aq-F, mg/mL) | | |
| 50 | 10.30 \pm 2.36 ^c | 0 ^e |
| 25 | 5.24 \pm 5.24 ^d | 0 ^e |
| 12.5 | 0 ^e | 0 ^e |
| 6.25 | 0 ^e | 0 ^e |
| Organic fraction (EtOAc-F, mg/mL) | | |
| 50 | 100 ^a | 100 ^a |
| 25 | 100 ^a | 100 ^a |
| 12.5 | 100 ^a | 86.75 ^b |
| 6.25 | 100 ^a | 86.00 ^b |
| 3.12 | 100 ^a | nt |
| 1.56 | 99.79 \pm 0.42 ^a | nt |
| Distilled water | 4.55 \pm 1.11 ^d | 1.50 \pm 1.29 ^d |
| Methanol 4% | 6.29 \pm 1.40 ^d | 2.25 \pm 2.21 ^d |
| Thiabendazole (0.6 mg/mL) | 100 ^a | nt |
| Ivermectin (5 mg/mL) | nt | 100 ^a |
| Variation coefficient (VC) | 9.82 | 10.94 |
| R ² | 0.99 | 0.98 |

Means with different letters in the same column represent statistically differences $P < 0.05$, s.d = standard deviation, nt = not tested.

3. Results

3.1. Egg hatching inhibition (EHI) bio-guided test

The *H. contortus* EHI percentage and the infective larvae mortality due to *A. farnesiana* pod extracts and the two fractions (Aq-F and EtOAc-F) at the different assessed concentrations are shown in Table 1. The integrate extract (HA-E) at 25 mg/mL showed close to 100% egg hatching inhibition and a LC₅₀ value of 12.97 mg/mL, while the EtOAc-F fraction showed a total ovicidal effect at 3.12 mg/mL. On the other hand, the Aq-F fraction inhibited only 10% of egg hatching at the highest tested concentration (50 mg/mL). After identifying the ovicidal activity in the EtOAc-F fraction, this mixture was separated to obtain fractions C1F1, C1F2, C1F3 and C1F4. Only C1F2 and C1F3 showed EHI values of 97.75 and 100% respectively at 5.0 mg/mL (Table 2). Purification process of the most active fraction generated C2F1, C2F2, C2F3, C2F4 and C2F5. The main ovicidal activity was observed in C2F3 subfraction giving 100% EHI at 2.5 mg/mL (Table 2). The lethal concentrations (LC₅₀ and LC₉₀) produced by *A. farnesiana* HA extract, fractions and sub-fractions are shown in Table 3. The treatment with the best ovicidal effect was the EtOAc-F fraction (LC₅₀ = 0.51 and LC₉₀ = 0.64 mg/mL, respectively).

3.2. Larval mortality bio-guided assay

The mortality values of *H. contortus* infective larvae caused by HA-E extract and its two fractions (Aq-F and EtOAc-F) at the different assessed concentrations, as well as their proper controls, are shown in Table 1. HA-E extract displayed 95.06% mortality at 25 mg/mL, whereas the EtOAc-F fraction showed its highest lethal effect (99.77%) at 6.25 mg/mL. On the other hand, the Aq-F showed no activity against *H. contortus* infective larvae. Likewise, the EtOAc-F assessed sub-

Table 2
Egg hatching inhibition and infective larvae mortality of five sub-fractions isolated from the EtOAc-F fraction from *Acacia farnesiana* pods against *Haemonchus contortus*.

| Evaluated fractions | Biological activity | |
|---------------------------|------------------------------|----------------------------|
| | %EHI ± s.d | %Mortality ± s.d |
| C1F1 (mg/mL) | | |
| 5 | 16.22 ± 3.58 ^{de} | 2.65 ± 1.27 ^e |
| 2.5 | 13.14 ± 1.87 ^{de} | nt |
| 1.25 | 3.04 ± 0.96 ^f | nt |
| C1F2 (mg/mL) | | |
| 5.0 | 97.75 ± 2.16 ^a | 2.30 ± 0.73 ^e |
| 2.5 | 98.55 ± 0.71 ^a | 0 |
| 1.25 | 95.85 ± 2.73 ^a | 0 |
| C1F3 (mg/mL) | | |
| 5.0 | 100 ^a | 76.25 ± 9.36 ^d |
| 2.5 | 70.75 ± 2.66 ^b | 80.65 ± 4.17 ^{cd} |
| 1.25 | 43.97 ± 7.44 ^{cd} | 78.72 ± 3.40 ^{cd} |
| C1F4 (mg/mL) | | |
| 5 | 7.36 ± 3.89 ^{ef} | 4.87 ± 1.67 ^e |
| 2.5 | 6.98 ± 3.06 ^{ef} | nt |
| 1.25 | 6.57 ± 2.64 ^{ef} | nt |
| C2F1 (mg/mL) | | |
| 5.0 | 24.00 ± 15.62 ^{de} | 5.27 ± 1.38 ^e |
| 2.5 | 15.07 ± 10.21 ^{def} | nt |
| 1.25 | 8.80 ± 6.62 ^{ef} | nt |
| C2F2 (5 mg/mL) | NA | NA |
| C2F3 (mg/mL) | | |
| 5.0 | 100 ^a | 85.07 ± 3.38 ^{cd} |
| 2.5 | 100 ^a | 80.90 ± 2.66 ^{cd} |
| 1.25 | 84.80 ± 5.83 ^{ab} | 88.12 ± 2.90 ^b |
| C2F4 (mg/mL) | | |
| 5.0 | 9.07 ± 2.97 ^{ef} | 6.22 ± 1.73 ^e |
| 2.5 | 7.52 ± 4.09 ^{ef} | nt |
| 1.25 | 7.50 ± 4.03 ^{ef} | nt |
| C2F5 (5 mg/mL) | 5.21 ± 2.89 ^f | NA |
| Methanol (4%) | 3.80 ± 0.37 ^f | 2.87 ± 0.69 ^e |
| Ivermectin (5 mg/mL) | | 100 ^a |
| Thiabendazole (0.6 mg/mL) | 100 ^a | nt |
| Variation coefficient | 12.00 | 10.75 |
| R ² | 0.98 | 0.99 |

Means with different letters in the same column represent statistically differences $P < 0.05$, NA = No Active, EHI = Egg hatching inhibition, s.d = standard deviation, nt = not tested.

fractions are shown in Table 2. The C1F3 sub-fraction led to 80% mortality at 2.5 mg/mL, and a similarly high mortality effect was observed with C2F3 at the same concentration. Moreover, the C1F1, C1F2, C1F4, C2F1, C2F2, C2F4 and C2F5 sub-fractions did not have any important larvicidal effect at all the tested concentrations. The lethal concentrations (LC₅₀ and LC₉₀) produced by *A. farnesiana* HA extract, fractions and sub-fractions are shown in Table 3. The treatment with the best larvicidal effect was the C2F3 sub-fraction (LC₅₀ = 1.17 and LC₉₀ = 3.64 mg/mL, respectively).

Table 3

Lethal concentrations required to inhibit 50 and 90% of *Haemonchus contortus* egg hatching and infective larvae (LC₅₀ and LC₉₀) after a 48 h incubation period with the hydroalcoholic extract and bioactive fractions (mg/mL).

| Treatments | Egg hatching inhibition assay | | Mortality assay | | | | | |
|------------------------|-------------------------------|-----------------------------|------------------|-----------------------------|------------------|-----------------------------|------------------|-----------------------------|
| | LC ₅₀ | 95% CI limits (Lower-Upper) | LC ₉₀ | 95% CI limits (Lower-Upper) | LC ₅₀ | 95% CI limits (Lower-Upper) | LC ₉₀ | 95% CI limits (Lower-Upper) |
| Hydroalcoholic extract | 12.97 | (12.53–13.42) | 17.65 | (16.54–19.51) | 42.35 | (40.33–44.33) | 64.53 | (60.23–70.67) |
| EtOAc-F | 0.51 | (0.50–0.53) | 0.64 | (0.61–0.67) | 1.66 | (0.39–2.87) | 11.52 | (9.35–16.31) |
| C1F2 | 0.35 | (0.22–0.35) | 1.15 | (1.04–1.28) | – | – | – | – |
| C1F3 | 1.95 | (1.79–2.14) | 7.51 | (6.23–9.46) | 1.36 | (1.27–1.45) | 4.49 | (4.01–5.13) |
| C2F3 | 0.96 | (0.92–1.00) | 1.34 | (1.29–1.39) | 1.17 | (1.10–1.25) | 3.64 | (3.29–4.10) |

CI = Confidence Interval (Lower-Upper), —not estimated.

3.3. Identification of bioactive compounds

HPLC chromatograms from *A. farnesiana* EtOAc-F fraction showed the presence of seven majority compounds (Fig. 1). The first separation process of this fraction allowed to obtain fractions C1F1–C1F4 where C1F3 displayed the highest anthelmintic effect (Table 2). The purification process of this fraction allowed to obtain five sub-fractions (C2F1–C2F5). The most active fraction (C2F3) was constituted by one peak at 11.00 min (Fig. 1D) which was identified as: naringenin-7-O-(6"-galloylglucoside) (6). Other less active fraction was C2F1 which was constituted by gallic acid (1), methyl gallate (2) and ethyl gallate (3). Naringin (4), naringenin 7-O-(4", 6"-digalloylglucoside) (5), and naringenin (7) were identified in the non-active fractions C2F2 and C2F5 (see Fig. 2).

3.4. *Haemonchus contortus* egg and infective larvae microscopy study

The structural changes observed either on eggs or infective larvae after exposure to the bioactive fractions are shown in Figs. 3 and 4. The main change identified in the eggs corresponded to a failure in embryonic development (Fig. 3A and 3Ba), with a separation of the internal egg coat, which appears as a detachment of the coat, forming a space (Fig. 3Bb). Likewise, larvae exposed to the organic fractions demonstrated a loss of internal cell integrity (Figs. 3C and 4D); some larvae had ruptures of the cuticle surface integrity in the larvae (Fig. 3Ca, 3Da). On the other hand, the samples observed under confocal microscopy showed yellow and orange products on the eggshell or the larvae cuticle (Fig. 4C), corresponding to the bioactive fraction residues attached to the eggshell and the larvae exposed to these fractions. On the other hand, the analysis of eggs exposed to the organic fractions through scanning electron microscopy showed the presence of granular structures attached to the eggshell (Fig. 4B).

4. Discussion

The results of this study provide evidence that HA-E extract from *A. farnesiana* pods has high ovicidal and larvicidal activity at 50 mg/mL (100 and 75.2%, respectively). The liquid-liquid chemical fractionation of the bioactive extract allowed us to obtain an organic fraction (EtOAc-F), which displayed a better nematocidal effect (100% EHI and 86.75% infective larvae mortality at only 6.25 mg/mL) than the HA-E extract. The results of the present study corroborate that the organic fraction was the most active and their bio-guide purification allowed us to identify to naringenin 7-O-(6"-galloylglucoside) (compound 6) as the most active compound. The results in both assays (EHI and mortality) are comparable to those determined for organic fractions of some leguminous plants tested against *H. contortus* and other nematode genus. For instance, von Son-de Fernex et al. (2015), found that an ethyl acetate fraction from *Leucaena leucocephala* displayed a higher ovicidal effect than the complete extract when it was evaluated against *Cooperia* spp. eggs. On the other hand, Barrau et al. (2005) obtained different

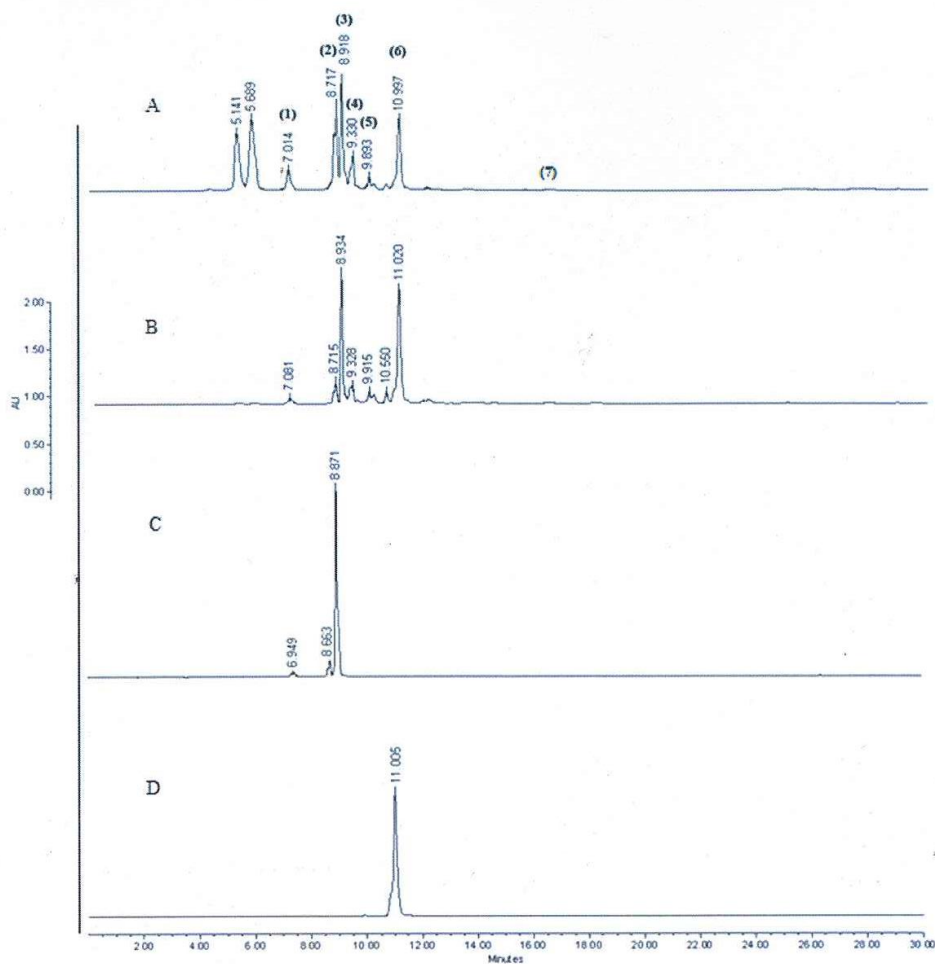


Fig. 1. Results of the HPLC analysis showing A) hydroalcoholic extract, B) organic fraction (EtOAc-F), C) C1F2 sub-fraction and D) C2F3 sub-fraction from *Acacia farnesiana* pods. Peaks correspond to: 1: gallic acid, 2: methyl gallate, 3: ethyl gallate, 4: naringin, 5: digalloylglucoside, 6: galloylglucoside, and naringenin.

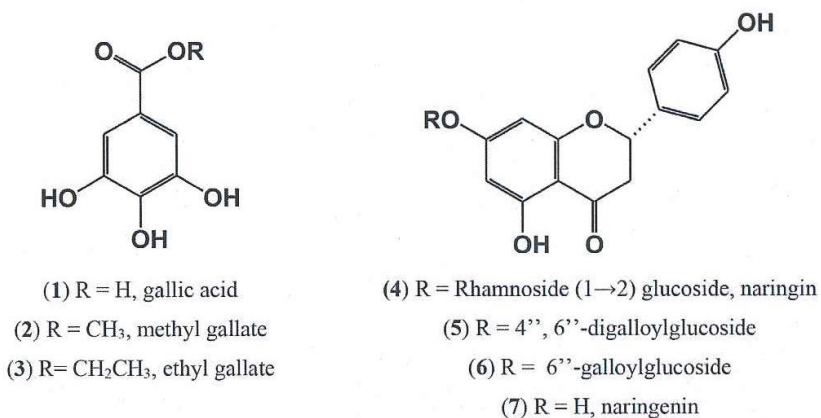


Fig. 2. Chemical structure of the identified compounds from *Acacia farnesiana* pods.

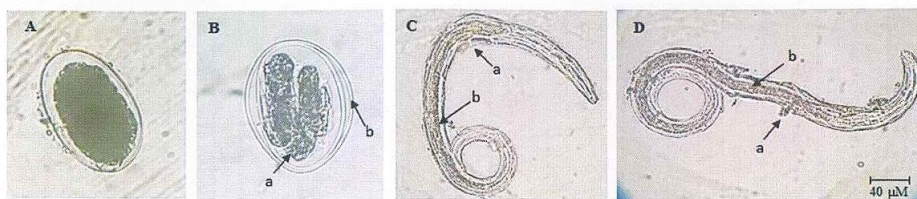


Fig. 3. Optical microscope images showing *Haemonchus contortus* eggs and infective larvae (40 \times) after 48 h exposure to an organic fraction (EtOAc-F) from *Acacia farnesiana* bioactive compounds: A) morulated egg at 2.5 mg/mL, B) embryonated egg after 48 h exposure to EtOAc-F at 1.25 mg/mL, C) and D) infective larvae at 12.5 mg/mL. a and b, indicate damage on eggs or larvae. Bar scale: 40 μ M.

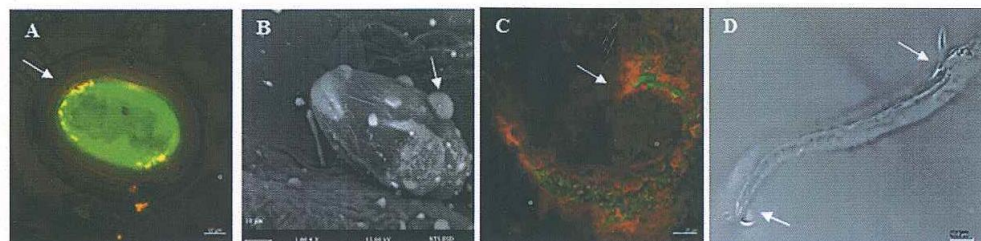


Fig. 4. Images taken with a confocal (630 \times) and scanning electron (1500 \times) microscope showing *Haemonchus contortus* eggs and infective larvae after exposure to *Acacia farnesiana* bioactive compounds. A) and B) embryonated egg after 48 h exposure to EtOAc-F fraction at 2.5 mg/mL; C) and D) infective larvae after 48 h exposure to EtOAc-F fraction at 12.5 mg/mL. Arrows indicate damage on eggs or larvae.

compounds from *Onobrychis vicifolia* aqueous extract. These authors reported a moderate larvicidal effect on *H. contortus* infective larvae with the extract and the aqueous fraction (1.2 mg/mL) indicating a low activity of polar compounds.

Several arboreal leguminous plants have an anthelmintic effect, whose activity has been attributed to their phenolic constituents (Poné et al., 2011; Mejía-Hernández et al., 2014). Some flavonoids and cinnamic acid derivatives (quercetin, caffeic and coumaric acids) have been reported to have egg hatching inhibition activity in *Cooperia punctata* and *H. contortus* at concentrations as low as 1 mg/mL (von Sonde Fernex et al., 2015; Castillo-Mitre et al., 2017). *In vitro* anthelmintic activity has been reported with different species belonging to the *Acacia* genus (Bachaya et al., 2009; Imran et al., 2011). For instance, studies have shown that *A. cochliacantha* leaves exhibit an important ovicidal and larvicidal effect against *H. contortus* and other gastrointestinal nematodes (Castillo-Mitre et al., 2017; Olmedo-Juárez et al., 2017). The anthelmintic effect was associated with phenolic compounds, especially with hydroxycinnamic acid and flavonoid derivatives. These studies together with the present work confirm that secondary compounds of lower polarity are the responsible for the ovicidal and larvicidal effect. In another study, different compounds obtained from *Onobrychis vicifolia* were assessed against *H. contortus* infective larvae, and three flavonols (rutin, nicotiflorin and narcissin) were identified as the main compounds responsible for the larvicidal activity (Barrau et al., 2005).

In the present study, we described the direct relationship between the anthelmintic effect and the naringenin 7-O-(6"-galloylglucoside) content, which showed the highest anthelmintic activity of all the isolated compounds from the C2F3 fraction (LC₅₀ = 0.96 and 1.17 mg/mL for ovicidal and larvicidal activity, respectively). This compound and other galloyl derivative compounds were contained in other bioactive sub-fractions, such as: C1F2 (gallic acid and methyl gallate), C1F3 (naringin, naringenin 7-O-(4", 6"-digalloylglucoside), naringenin 7-O-(6"-galloylglucoside) and naringenin) and C2F3 (naringenin 7-O-(6"-galloylglucoside)). These results are in agreement with those described by Quijada et al. (2015) who reported that the highest anthelmintic effect on *H. contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* (gastrointestinal nematode of small ruminants) was due to the galloyl derivatives and

condensed tannins contained in several plants. Meanwhile, Molan et al. (2003), assessed some commercial galloyl flavonoids (0.1–1.0 mg/mL) against *T. colubriformis* eggs, and indicated that the galloyl group is essential for the biological activity. These authors attributed that the effect could be due to a correlation between the number of hydroxyl groups in the B-ring and inhibitory effect.

The wide range in medicinal properties of vegetal species has been well documented and their flavonoid or phenolic compounds content has gained the attention of pharmaceutical researchers due to their association with a number of biological activities. For example, flavonoid compounds from *Ajania nibijena* (luteolin and luteolin 7-O- β -D-glucopyranoside) have shown significant anthelmintic activities against nematodes and trematodes. These compounds were identified as novel drug lead anthelmintic, which can be first applied to veterinary medicines (Wangchuk et al., 2016). Another study conducted by Katiki et al. (2013) indicated that condensed and hydrolysable tannins displayed nematocidal activity against the free-living nematode *Caenorhabditis elegans* where hydrolysable tannins (base structure of gallic acid) were more active. These results corroborate the ovicidal activity of gallic acid found in C1F2 fraction against *H. contortus* obtained in this study (Table 2).

In vitro studies indicated that flavanones naringin and naringenin have medicinal properties, i.e., anticancer, antioxidant and antimicrobial activities (Patel et al., 2014). However, in the present study, these flavanones did not show any anthelmintic effect and this was confirmed using commercial compounds. Meanwhile, the galloyl derivative 6 displayed the most anthelmintic activity, indicating that the galloyl group is essential for this biological activity.

This is the first record of the association of naringenin 7-O-(6"-galloylglucoside) with anthelmintic activity. The high ovicidal and larvicidal activity showed by the *A. farnesiana* organic fraction encouraged the authors of the present study to proceed with the identification of the bioactive principles, such as galloylglucoside, whose high anthelmintic activity could confer its use as a potential anthelmintic agent for controlling sheep haemonchosis.

On the other hand, the action mechanism of natural products on the different *H. contortus* stages has been board (Hoste et al., 2012; Akkari

et al., 2016). A study carried out through ESEM showed changes in *Cooperia* spp. eggs, characterised by thickness and fractures of the eggshell layers after incubation with caffeic acid and quercetin obtained from *Leucaena leucocephala* leaves (von Son de Fernex et al., 2015). In the present study, the presence of some structures of granular drops appeared attached to the eggshell, as observed through ESEM; this could correspond to residues of the active compounds from *A. farnesiana* EtOAc-F fraction. Meanwhile, images taken by CLSM allowed for the observation of the parasitic stages, stained with two different colours; eggs and larvae were visualised with a green colour and the organic fraction appeared stained with an orange-yellow colour. These observations confirm that the bioactive compounds were attached in the eggshell and the cuticle of the larvae. This same effect was observed by Cortes-Morales et al. (2019) who found similar results when they confronted the *H. contortus* eggs with an organic fraction from *Baccharis conferta*; indicating that the content of isokaempferide (Flavonol) and hydroxycinnamic acid derivatives are related with the antiparasitic effect.

On the other hand, there is scientific evidence of the ultrastructural damage that is provoked by some secondary metabolites from plant extracts (i.e., *Lysiloma latistilgum*) on the cuticle of *H. contortus* infective larvae and adult parasites (Martínez-Ortiz de Montellano et al., 2013; Barone et al., 2018). In this context, the images taken by optical, confocal and environmental scanning electron microscopy of the bioactive compound isolated from *A. farnesiana* showed evident damage to the external cuticle (Figs. 3Ca, 3Da and 4D) and to the integrity of the intestinal cells of the infective larvae (Fig. 3Cb and Db).

The ovicidal and larvicidal effect of some extracts and their phenolic compounds obtained from plants on gastrointestinal nematodes or ruminants has been demonstrated. One hypothesis has been suggested regarding the mechanism of action and is the compounds ability to permeate the cuticular layers of either eggs or infective larvae of the parasite (von Son-de Fernex et al., 2015).

According to Laing et al. (2016), *Haemonchus* eggs do not incorporate any external food material and, therefore, egg survival relies on endogenous energy stores. In the eggs, the transcription of genes associated with oxidoreductase activity, apoptosis, body morphogenesis, larval and embryo development, DNA replication and/or chromosome organisation are up-regulated. Therefore, studies on the enzymatic processes could be a useful tool to identify the relationship between parasite and phenolic compounds (Harder, 2016).

5. Conclusions

The *in vitro* ovicidal and larvicidal effect of the organic fraction (EtOAc-F) from *A. farnesiana* pods against *H. contortus* was demonstrated that naringenin 7-O-(6"-galloylglucoside), was identified as responsible for the anthelmintic activity. These results justify continuing investigation on the organic fraction *in vivo* under controlled conditions to corroborate their activity recorded *in vitro*, either in laboratory animals or in ruminants. This leguminous plant could be used as a nutraceutical food source for the control of haemonchosis in small ruminants.

Funding

Part of this work was supported by INIFAP (Projects SIGI: 103482932 and 8215734475), the Universidad Autónoma del Estado de México (Project UAEM 4585/2018/CIP) and Red Temática de Fitoquímicos, CONACYT (Project number 294727, 2018). The first author received a scholarship from CONACYT-Mexico (reference number 577419). AZ thanks the IMSS Foundation.

Declaration of competing interest

The authors declare that they have no competing interests.

Acknowledgements

The authors wish to express our gratitude to biologist Gabriel Flores-Franco from the Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación, UAEM, Morelos, Mexico for identifying the plant material used in this study. This study formed part of the PhD thesis of Miguel A. Zarza-Albarrán (at the Universidad Autónoma del Estado de México), under the direction of Dr. Agustín Olmedo-Juárez and Dr. Rolando Rojo Rubio.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112402>.

References

- Akkari, H., Hajaji, S., B'chir, F., Reikik, M., Gharbi, M., 2016. Correlation of polyphenolic content with radical-scavenging capacity and anthelmintic effects of *Rubus ulmifolius* (Rosaceae) against *Haemonchus contortus*. *Vet. Parasitol.* 221, 46–53.
- Bachaya, H.A., Iqbal, Z., Khana, M.N., Zia-ud-Din, Sindhu, Jabbar, A., 2009. Anthelmintic activity of *Zitiphus nummularia* (bark) and *Acacia nilotica* (fruit) against *Trichostrongylid* nematodes of sheep. *J. Ethnopharmacol.* 123, 325–329.
- Barone, C.D., Zajac, A.M., Manzi-Smith, L.A., Howell, A.B., Reed, J.D., Kruger, C.G., Peterson, K.H., 2018. Anthelmintic efficacy of cranberry vine extracts on ovine *Haemonchus contortus*. *Vet. Parasitol.* 253, 122–129.
- Barrau, E., Fabre, N., Fouraste, I., Hoste, H., 2005. Effect of bioactive compounds from *Sainfoin* (*Onobrychis viciifolia* Scop.) on the *in vitro* larval migration of *Haemonchus contortus*: role of tannins and flavonol glycosides. *Parasitology* 131, 531–538.
- Brito, D.R.B., Costa-Júnior, L.M., Garcia, J.L., Torres-Acosta, J.F.J., Louvandini, H., Cutrim-Júnior, J.A.A., Araújo, J.F.M., Soares, E.D.S., 2018. Supplementation with dry *Mimosa caesalpinjifolia* leaves can reduce the *Haemonchus contortus* worm burden of goats. *Vet. Parasitol.* 252, 47–51.
- Cárdenas-Pérez, S., Méndez-Méndez, J.V., Chanona-Pérez, J.J., Zdunek, Artur, Güemes-Vera, N., Calderón-Domínguez, G., Rodríguez-González, F., 2017. Prediction of the nanomechanical properties of apple tissue during its ripening process from its firmness, colour and microstructural parameters. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 39, 79–87.
- Castillo-Mitre, G.F., Olmedo-Juárez, A., Rojo-Rubio, R., Cortázar-González, M., Mendoza-de Gives, P., Hernández-Beteta, E.E., Reyes-Guerrero, D.E., López-Arellano, M.E., Vázquez-Armijo, J.F., Ramírez-Vargas, G., Zamilpa, A., 2017. Caffeoyl and coumaroyl derivatives from *Acacia cochliacantha* exhibit ovicidal activity against *Haemonchus contortus*. *J. Ethnopharmacol.* 204, 125–131.
- Coles, G.C., Bauer, C., Borgsteede, F., Geerts, S., Klei, T.R., Taylor, M.A., Waller, P.J., 1992. World association for advancement in veterinary parasitology (WAAVP) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Vet. Parasitol.* 44, 35–43.
- Cortes-Morales, J.A., Olmedo-Juárez, A., Trejo-Tapia, G., González-Cortázar, M., Domínguez-Mendoza, B.E., Mendoza-de Gives, P., Zamilpa, A., 2019. *In vitro* ovicidal activity of *Baccharis conferta* Kunth against *Haemonchus contortus*. *Exp. Parasitol.* 197, 20–28. [10.1016/j.exppara.2019.01.003](https://doi.org/10.1016/j.exppara.2019.01.003).
- Cooke, A.S., Morgan, E.R., Dungait, J.A.J., 2017. Modelling the impact of target anthelmintic treatment of cattle on dung fauna. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 55, 94–98.
- Daeseleire, E., Van Pamel, E., Van Poucke, K., Croubels, S., 2017. Chapter 6 - veterinary drug residues in foods. In: Schrenk, D., Cartus, A. (Eds.), 2017. *Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, Chemical Contaminants and Residues in Food*, second ed. Woodhead Publishing, pp. 117–153.
- Delgadillo-Puga, C., Cuchillo-Hilario, M., Navarro-Ocaña, A., Medina-Campos, O.N., Nieto-Camacho, A., Ramírez-Apan, T., López-Teceoyod, Z.G., Díaz-Martínez, M., Álvarez-Izaga, M.A., Cruz-Martínez, Y.R., Sánchez-Quezada, V., Gómez, F.E., Torre-Villalvazo, I., Furuzawa, C.J., Camacho-Corona, M.R., Pedraza-Chaverri, J., 2018. Phenolic compounds in organic and aqueous extracts from *Acacia farnesiana* pods analyzed by UPLS-ESI-Q-oe/TOF-MS. *In vitro* antioxidant activity and anti-inflammatory response in CD-1 mice. *Molecules* 23, 2386. [10.3390/molecules23092386](https://doi.org/10.3390/molecules23092386).
- 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. *Vet. Parasitol.* 205, 246–254.
- Fiel, C.A., Steffan, P.E., Muchiut, S.M., Fernández, A.S., Bernat, G., Riva, E., Loberas, M.M., Almada, A., Homer, D., 2017. An attempt to replace an ivermectin-resistant *Cooperia* spp. population by a susceptible one on grazing pastures based on epidemiological principles and refugia management. *Vet. Parasitol.* 246, 53–59.
- Garavito, G., Rincón, J., Arteaga, L., Hata, Y., Bourdy, G., Gimenez, A., Pinzón, R., Deharo, E., 2006. Antimalarial activity of some Colombian medicinal plants. *J. Ethnopharmacol.* 107, 460–462.
- García-Barriga, H., 1992. *Flora Medicinal Colombiana*, vol. 3. Tercer Mundo Editores, Bogotá, Colombia.
- García-Hernández, C., Arece-García, J., Rojo-Rubio, R., Mendoza-Martínez, G.D.,

- Albarrán-Portillo, B., Vázquez-Armijo, J.F., Avendaño-Reyes, L., Olmedo-Juárez, A., Marie-Magdeleine, C., López-Leyva, Y., 2017. Nutraeutic effect of free condensed tannins of *Lysiloma acapulcensis* (Kunth) Benth on parasite infection and performance of Pelibuey sheep. *Trop. Anim. Health Prod.* 49, 55–61.
- García, S., Alarcón, G., Rodríguez, C., Heredia, N., 2006. Extracts of *Acacia farnesiana* and *Artemisa ludoviciana* growth, enterotoxin production and adhesion of *Vibrio cholera*. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 22, 669–674.
- García-Winder, L.R., Goñi-Cedeño, S., Olguín-Lara, P.A., Díaz-Salgado, G., Arriaga-Jordan, C.M., 2009. Huitzache (*Acacia farnesiana*) whole pods (flesh and seeds) as an alternative feed for sheep in Mexico. *Trop. Anim. Health Prod.* 41, 1615–1621.
- Gasbarre, L.C., 2014. Anthelmintic resistance in cattle nematodes in the US. *Vet. Parasitol.* 204 (1–2), 3–11.
- González-Cortazar, M., Zamilpa, A., López-Arellano, M.E., Aguilar-Marcelino, L., Reyes-Guerrero, D.E., Olazarán-Jenkins, S., Ramírez-Vargas, G., Olmedo-Juárez, A., Mendoza-de Gives, P., 2018. *Lysiloma acapulcensis* leaves contain anthelmintic metabolites that reduce the gastrointestinal nematode egg population in sheep faeces. *Comp. Clin. Pathol.* 27, 189–197.
- Harder, A., 2016. The biochemistry of *Haemonchus contortus* and other parasitic nematodes. *Adv. Parasitol.* 93, 69–94.
- Hernández-García, E., García, A., Garza-González, E., Avalos-Alanis, F.G., Rivas-Galindo, V.M., Rodríguez-Rodríguez, J., Alcantar-Rosales, M., Delgadillo-Puga, C., Camacho-Corona, M.R., 2018. Chemical composition of *Acacia farnesiana* (L.) wild fruits and its activity against *Mycobacterium tuberculosis* and dysentery bacteria. *J. Ethnopharmacol.* 230, 74–80.
- Hoste, H., Martínez-Ortiz-De-Montellano, C., Manolaraki, F., Brunet, S., Ojeda-Robertos, N., Fourquaux, I., Torres-Acosta, J.F.J., Sandoval-Castro, C.A., 2012. Direct and indirect effects of bioactive tannin-rich tropical and temperate legumes against nematode infections. *Vet. Parasitol.* 186, 18–27.
- Imran, I., Hussain, L., Zia-Ul-Haq, M., Janbaz, K.H., Gilani, Anwar H., De Feo, V., 2011. Gastrointestinal and respiratory activities of *Acacia leucophloea*. *J. Ethnopharmacol.* 138, 676–682.
- Jiménez, A., 2012. *Herbolaria Mexicana*. 2ª Edición. Colegio de Posgraduados, Guadaluajara, Jalisco, México, pp. 531.
- Juárez-Vázquez, M.C., Carranza-Álvarez, C., Alonso-Castro, A.J., González-Alcaraz, V.F., Bravo-Acevedo, E., Chamorro-Tinajero, F.J., Solano, E., 2013. Ethobotany of medicinal plants used in Xalpatlahuac, Guerrero, México. *J. Ethnopharmacol.* 148, 521–527.
- Katiki, L.M., Ferreira, J.F.S., Gonzalez, J.M., Zajac, A.M., Lindsay, D.S., Chagas, A.C.S., Amarante, A.F.T., 2013. Anthelmintic effect of plant extracts containing condensed and hydrolyzable tannins on *Caenorhabditis elegans* and their antioxidant capacity. *Vet. Parasitol.* 192, 218–227.
- Khare, C.P., 2007. *Acacia farnesiana* (L.) Willd. In: *Indian Medicinal Plants*. Springer, New York, NY. https://doi.org/10.1007/978-0-387-70638-2_12.
- Klongsirirwet, C., Quijada, J., Williams, A.R., Mueller-Harvey, I., Williamson, E.M., Hoste, H., 2015. Synergistic inhibition of *Haemonchus contortus* exsheathment by flavonoid monomers and condensed tannins. *Int. J. Parasitol. Drugs Drug Resist.* 5, 17–134.
- Laing, R., Martinelli, A., Tracey, A., Holroyd, N., Gilleard, J., Cotton, J.A., 2016. *Haemonchus contortus*: genome structure, organization and comparative genomics. In: Gasser, R., Samson-Himmelsjærna, G.V. (Eds.), *Haemonchus contortus* and Haemonchosis Past, Present and Future Trends. *Advance in Parasitology*, vol. 93. pp. 570–591.
- Martínez-Ortiz-de-Montellano, C., Arroyo-López, C., Fourquaux, I., Torres-Acosta, J.F.J., Sandoval-Castro, C., Hoste, H., 2013. Scanning electron microscopy of *Haemonchus contortus* exposed to tannin-rich plants under *in vivo* and *in vitro* conditions. *Exp. Parasitol.* 133 (3), 281–286.
- Mejía-Hernández, P., Salem, A.Z.M., Elghandour, M.M.M.Y., Cipriano-Salazar, M., Cruz-Lagunas, B., Camacho, L.M., 2014. Anthelmintic effects of *Salix babylonica* L. and *Leucaena leucocephala* Lam. extracts in growing lambs. *Trop. Anim. Health Prod.* 46, 173–178.
- Molan, A.L., Meagher, L.P., Spencer, P.A., Sivakumaran, S., 2003. Effect of flavan-3-ols on *in vitro* egg hatching, larval development and viability on infective larvae of *Trichostrongylus colubriformis*. *Int. J. Parasitol.* 33, 1691–1698.
- Olmedo-Juárez, A., Rojo-Rubio, R., Zamilpa, A., Mendoza-de Gives, P., Arece-García, J., López-Arellano, M.E., von Son-de Fernex, E., 2017. *In vitro* larvicidal effect of a hydroalcoholic extract from *Acacia cochliacantha* leaf against ruminant parasitic nematodes. *Vet. Res. Commun.* 41, 227–232.
- Patel, K., Sing, G.K., Patel, D.K., 2014. A review on pharmacological and analytical aspect of naringenin. *Chin. J. Integr. Med.* 1, 13. <https://doi.org/10.1007/s11655-014-1960-x>.
- Poné, W.J., Florencia, K.T., Mbida, M., Tedonkeng, P.E., Bilong, B.C.F., 2011. *In vitro* activities of acetone extracts from leaves of three forage legumes (*Calliandra calothyrsus*, *Gliricidia sepium* and *Leucaena diversifolia*) on *Haemonchus contortus*. *Asian. Pac. J. Trop. Med.* 4 (2), 125–128.
- Quijada, J., Frygas, C., Ropiak, H.M., Ramsay, A., Mueller-Harvey, I., Hoste, H., 2015. Anthelmintic activities against *Haemonchus contortus* or *Trichostrongylus colubriformis* from small ruminants are influenced by structural features of condensed tannins. *J. Agric. Food Chem.* 63, 6346–6354.
- Ramil, S., Haranda, K., Ruangrunsi, N., 2011. Antioxidant, antimicrobial and cytotoxicity activities of *Acacia farnesiana* (L.) Willd. leaves ethanolic extract. *Pharmacogn. J.* 3 (23), 58–58.
- Ramírez, R.G., Ledezma-Torres, R.A., 1997. Forage utilization from native shrubs *Acacia rigidula* and *Acacia farnesiana* by goats and sheep. *Small Rumin. Res.* 25, 43–50.
- Rodríguez-Vivas, R.I., Grisi, L., Pérez-de León, A.A., Silva-Villela, H., Torres-Acosta, J.F.J., Frago-Sánchez, H., Romero-Salas, D., Rosario-Cruz, R., Saldierna, F., García-Carrasco, D., 2017. Potential economic impact assessment for cattle parasites in Mexico. *Review. Rev. Mex. Cienc. Pecu.* 8 (1), 61–74.
- Roeder, F., Jex, A.R., Gasser, R.B., 2013. Advances in the diagnosis of key gastrointestinal nematode infection of livestock, with an emphasis on small ruminants. *Biotechnol. Adv.* 31, 1135–1152.
- SAS, 2006. SAS Institute. SAS User's Guide: Statistics. Ver 9.0. Cary, NC, USA.
- von Son-de Fernex, E., Alonso-Díaz, M.A., Mendoza-de-Gives, P., Valles-de la Mora, B., González-Cortazar, M., Zamilpa, A., Castillo-Gallegos, E., 2015. Elucidation of *Leucaena leucocephala* anthelmintic-like phytochemicals and the ultrastructural damage generated to eggs of *Cooperia* spp. *Vet. Parasitol.* 214, 89–95.
- Wagner, H., Bladt, S., 2001. *Plant Drug Analysis*, second ed. Springer, Berlin, Heidelberg, New York.
- Wangchuck, P., Giacomini, P.R., Pearson, M.S., Smout, M.J., Loukas, A., 2016. Identification of lead chemotherapeutic agents from medicinal plants against blood flukes and whipworms. *Sci. Rep.* 6, 32101. <https://doi.org/10.1038/srep32101>.
- Wangchuk, P., Pearson, M.S., Giacomini, P.R., Becker, L., Sotillo, J., Pickering, D., Smout, M.J., Loukas, A., 2016. Compounds derived from the Bhutanese Daisy, *Ajania nubi-gena*, demonstrate dual anthelmintic activity against *Schistosoma mansoni* and *Trichuris muris*. *PLoS Neglected Trop. Dis.* 10 (8), e0004908. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004908>.

VIII. DISCUSIÓN GENERAL

Los recursos forrajeros nativos se han considerado en muchos casos como malas hierbas, sin embargo, algunos ecosistemas como el bosque bajo caducifolio incluyen plantas que son importantes por su valor potencial para la alimentación del ganado rumiante (Torres-Fajardo et al., 2020).

Acacia farnesiana se encuentra entre uno de los 10 arbustos nativos más consumidos por los rumiantes en pastoreo (Ramírez et al., 1999). Por esta razón, partes de este arbusto como son los frutos y hojas han sido estudiados para ser utilizadas como suplemento nutricional en la alimentación de pequeños rumiantes, como ovejas y cabras (García-Winder et al., 2009; Velázquez et al., 2011b; Barrientos-Ramírez et al., 2012; Olivares-Pérez et al., 2017; Delgadillo-Puga et al., 2019). Estos reportes indican resultados variables, no obstante, coinciden en que este recurso como fuente de alimento para ovejas y cabras, constituye una fuente alternativa de nutrientes que tiene la capacidad de sustituir fuentes de alimento externas y gracias a esto, disminuir los costos de alimentación.

El contenido nutricional de los frutos de *A. farnesiana* reportado en la literatura (Ayala Burgos et al., 2004; Garcia-Winder et al., 2009; Velázquez et al., 2011b Quiroz-Cardozo et al., 2015; Olivares- Pérez et al., 2017), coincide con los resultados encontrados en este estudio (MS, 87.54; MO, 91.30; PC, 12.52; FDN, 30.80; FDA, 34.22), no obstante, las variaciones observadas son resultado de diferentes factores, como el estado de madures de los frutos, el proceso de recolección y secado, así como, la región donde se realizó la recolección. Así mismo, Hassan et al. (1993) reportaron para extractos etanolicos algunos compuestos encontrados en este estudio, como el ácido gálico, galato de metilo y naringenina.

8.1. Respuesta productiva, características de la canal, y calidad de la carne de ovinos complementados con harina de frutos de Acacia Farnesiana

Consumo de materia seca (CMS). El CMS es uno de los parámetros más críticos cuando se utilizan plantas con presencia de compuestos secundarios, ya que estos pueden modificar el nivel de ingesta de alimento. En este estudio la adición de harina de frutos de *A. farnesiana* no mostró diferencias significativas ($P>0.05$) para este parámetro en las dos etapas productivas, ya que los niveles que se utilizaron fueron bajos. Los resultados encontrados en el presente estudio concuerdan con lo reportado por García-Winder et al. (2009), donde no reportan diferencias en el CMS para dietas con niveles de

inclusión de frutos de *A. farnesiana* de 120 y 240 g/kg de MS, contrario a lo reportado por Velázquez et al. (2011), donde la inclusión de 30% de frutos molidos en las dietas para ovinos aumenta el consumo voluntario. Por otra parte, Quiroz-Cardoso et al. (2015), en estudios con diferentes acacias, reportaron que la concentración de taninos condensados en frutos de *A. farnesiana* no influye sobre el consumo ni el índice de palatabilidad, pero la cantidad de fenoles totales si afecta estos parámetros. Es importante mencionar que la concentración de compuestos secundarios en *A. farnesiana* es muy variable (Quiroz-Cardoso et al., 2015; García-Winder et al., 2009) y depende del estado de madures de los frutos, condiciones edafológicas y ambientales en que estas se desarrollan, naturaleza morfológica y química del tipo de compuesto (Musharaf y Farrukh, 2012). El consumo diario de materia seca en este estudio fue ligeramente mayor (1.53 kg) a lo reportado por Vázquez-Soria et al. (2011) para esta cruce de ovinos (1.45 kg). Los resultados reportados para este estudio se encuentran dentro de los rangos para corderos en crecimiento y finalización respectivamente (NRC, 2007).

Ganancia de peso. Tanto la ganancia diaria de peso (GDP) como ganancia total de peso (GTP) en la etapa de crecimiento, fueron afectados positivamente por los tratamientos con inclusión de harina de *A. farnesiana*, mismos que fueron reflejados en el peso vivo final (PVF) de los animales para esta etapa productiva. La GDP encontrados en este estudio (260, 330, 330, 360 g/d) para el periodo de crecimiento y (330, 330, 350, 340 g/d) en la etapa de finalización para T0, T1, T2, T3 respectivamente, fueron ligeramente menor a lo reportado por Vázquez-Soria et al. (2011), para esta cruce (353 g/d). Sin embargo, fueron superiores a los reportados por Gomes-Gurrola et al. (2014), (185 y 169 g/día) tras suplementar con fruto de *Guazuma ulmifolia* en la finalización de ovinos Pelibuey, así como los resultados obtenidos por García-Winder et al. (2009) al incluir 12 % de frutos de *A. farnesiana* en la dieta de corderas Pelibuey en crecimiento con ganancias de 75 g/día. Esto podría deberse principalmente a el grupo racial utilizado, así como a los ingredientes que conformaron la dieta, ya que los niveles de suplementación que usaron fueron elevados en comparación con lo utilizado en nuestro experimento.

Se ha reportado en la literatura que la presencia de compuestos secundarios en proporciones moderadas en la dieta, principalmente taninos condensados, puede alterar de manera positiva el comportamiento productivo de los animales mejorando la ganancia de peso debido a diferentes mecanismos de acción, tales como los complejos formados entre las proteínas y los taninos condensados (Cortés et al., 2009) mejorando así el tránsito de proteína al tracto posterior donde pueden ser absorbidos después de la ruptura de los enlaces por acción de pH ácido del abomaso

(Denthino et al 2014; Orlandi et al., 2015). Un mecanismo más puede ser la alteración que estos generan sobre las poblaciones bacterianas del rumen ya que pueden inhibir el crecimiento de protozoarios y bacterias fibrolíticas, a su vez estimular la proliferación de bacterias amilolíticas tales como, *Succinimonas amylolytica* y *Selenomonas ruminantium* productoras de propionato (Castro-Montoya et al., 2011). Además, las adiciones de saponinas de algunas especies mejoran la eficiencia de síntesis de proteína microbiana conduciendo a un proceso de fermentación energéticamente de mayor eficiencia (Castro-Montoya et al., 2011).

8.2. Características de la canal, cortes primarios y peso de las vísceras

La calidad de la canal es uno de los parámetros de mayor importancia a evaluar en los procesos de producción y comercialización de ovinos, ya que determina en gran medida el precio de venta.

Color de la canal. En el presente estudio el color de la canal resulto similar a lo reportados por Jaborek et al. (2018) para L* con 40.91, y superior a lo reportado por Al-klalasi y Mahgoub, (2018), en este sentido los valores de L* se ven afectados por la concentración de mioglobina misma que varía con la edad de los animales (Jaborek et al., 2018), por el contrario, los valores de a* y b* difieren con lo reportado por Jaborek et al. (2018) y resultaron similares con Al-klalasi y Mahgoub, (2018). Esta variación en los resultados encontrados en este estudio y estudios previos se debe posiblemente a la edad de los animales y el tipo de alimentación (Ruiz de Huidobro et al., 2005).

Color de la grasa. El color de la grasa en este estudio no mostro diferencias significativas en los tratamientos con respecto al control, los valores encontrados para L* coinciden con lo reportado por Jaborek et al. (2018), por el contrario, los valores de a* que reporta este mismo autor (8.63) fueron mayores a los encontrados en este estudio. Los autores anteriormente mencionados, reportaron diferencias significativas con respecto a la dieta que consumieron los animales para este parámetro. Sin embargo, especulan que el efecto se pudo deber al manejo de los animales durante el sacrificio. Los valores de b* fueron ligeramente mayores en este estudio, ya que Jaborek et al. (2018) sugieren que los carotenoides y xantofilas presentes en los forrajes pueden provocar un color amarillento en la grasa, compuestos que posiblemente estuvieran presentes en los frutos de *A. farnesiana*.

PH. Los valores de pH (5.65-5.83) de la canal obtenidos en este estudio a las 24 h para en todos los tratamientos, fueron similares a los reportados por Jaborek et al. (2018) para ovinos de cruza Dorset

x Hampshire. Mientras que resultaron ligeramente superiores a los observados por Partida de la Peña et al. (2017) y Al-klalasi y Mahgoub, (2018), quien es reportaron valores de pH promedio de 5.5 a las 24 h del sacrificio. La variación en este parámetro depende de diferentes factores como el manejo de los animales al momento del sacrificio, así como, la edad de los animales (Berlain et al., 2000; McGeehin et al., 2001; Knapik et al., 2017). Del mismo modo, algunos autores han reportado variación debido al tipo de dieta ya que canales provenientes de animales finalizados con dietas altas en grano pueden presentar valores más altos en comparación con animales que su dieta estuvo basada en forraje (Jaborek et al., 2018).

Grasa dorsal. La cobertura de grasa en la canal es el principal factor que determina su valor comercial, ya que evita la desecación de la canal, influye sobre la terneza y jugosidad de la carne, así como en el caso de ovinos interfiere en el aroma y sabor de la carne (Ruiz de Huidobro et al., 2005). La grasa dorsal obtenida en este experimento fue baja (2.43, 2.79, 3.26, 2.92 mm, respectivamente) en comparación con lo reportado por Vázquez-Soria et al. (2011), donde obtuvieron 6.33 mm. Esta característica es debida al peso de salida de los animales, lo que indica que se puede incrementar los pesos al sacrificio (Vázquez-Soria et al., 2011). En este sentido, la norma mexicana para la clasificación de las canales permite hasta 6.9 mm de cobertura de grasa subcutánea en corderos pesados para poder ser considerado en la clasificación "MEX EXT".

Grados GR. El espesor de la grasa subcutánea dorsal es un parámetro objetivo altamente correlacionado con la mayoría de los tejidos tisulares de la canal, principalmente las tres piezas de mayor valor comercial (Ruiz de Huidobro et al., 2005). En este sentido, las mediciones del punto GR es otra alternativa que se relaciona con la cantidad de grasa en toda la canal y que además se facilita su implementación sin interferir en la línea de sacrificio de los animales (Kirton et al., 1986). En este estudio no se encontraron diferencias estadísticas ($P>0.05$) para esta variable debido al efecto de los tratamientos (10.94, 12.06, 12.75, 12.48) para T0, T1, T2, T3, respectivamente, estos resultados se encuentran dentro de los rangos propuestos por Bianchi, (2008) para canales con peso de 18.5 a 22 kg.

Área del ojo de la chuleta. El musculo *Longissimus dorsi* es una de las variables más importantes para determinar la calidad de la canal, ya que está altamente correlacionado con la cantidad total de musculo de la misma y corresponde con el espinazo o rack y el lomo que son las piezas de mayor valor económico (Vázquez-Soria et al., 2011). En este estudio a pesar de que no se encontraron

diferencias estadísticas ($P > 0.05$), se observa un aumento en los tratamientos en comparación con el control. Asimismo, los valores encontrados en nuestro estudio para este parámetro son mayores a los reportados por Vázquez- Soria et al. (2011) 17.4 cm^2 , así como a los datos promedios que reporta Partida de la Peña et al., (2017) para ovinos finalizados de forma intensiva, esto debido al genotipo de los animales estudiados.

Rendimientos de la canal. Los rendimientos encontrados en este estudio concuerdan en gran medida con Partida de la Peña et al. (2017) quienes reportaron un promedio del 50.9% de rendimientos de la canal para ovinos finalizados en sistemas intensivos, lo que coincide con lo encontrado en este estudio para el T0, los rendimientos de T1, T2 y T3 fueron superiores a lo reportado por estos autores. Por otra parte, Al-klalasi y Mahgoub (2018), no encontraron diferencias estadísticas sobre el peso de la canal caliente y canal fría en ovinos suplementados con diferentes formas de procesamiento de vainas de *Prosopis juliflora*.

Cortes primarios. El rendimiento de los cortes primarios es un factor importante para la comercialización de la carne de ovinos cuando de cortes se trata, ya que cada uno de ellos recibe un valor diferente. En este estudio los pesos de los cortes primarios fueron similares ($P > 0.05$) para piernas, cuello, espaldilla, rack y costillas (Cuadro 6), lo que coincide con lo reportado por Rios-Rincón et al. (2012) en ovinos Pelibuey alimentados con garbanzo de desecho y Gomes-Gurrola et al. (2017) en ovinos de pelo alimentados con diversas proporciones de *Tithonia diversifolia*. Sin embargo, en el peso del lomo se observaron diferencias estadísticas ($P < 0.05$) (Cuadro 6). El peso y el rendimiento de los cortes primarios se asocia con el peso al sacrificio y el sistema de alimentación (Rios-Rincon et al., 2012).

Medidas morfométricas. Las mediciones correspondientes a este rubro concuerdan con lo reportado por otros autores (Vázquez-Soria et al., 2011) para canales de cruce de Katahdin-Charollais y con Partida de la Peña et al. (2017) en canales de ovinos finalizados de forma intensiva. En este sentido estas variables no se vieron afectadas por los niveles de inclusión de vainas de *A. farnesiana*, ya que estas, dependen en gran medida de la raza y edad de los animales (Partida de la Peña et al., 2017). Por otro lado, nuestros datos fueron similares a los reportados por Al-klalasi y Mahgoub, (2018) quienes no encontraron diferencias significativas para estas variables en ovinos suplementados con frutos de *Prosopis juliflora*.

Visceras. Se cree que la carga de trabajo por la absorción más que la cantidad o las características de la digesta en el intestino delgado tiene un impacto importante en la masa intestinal, así como el peso, la textura o la composición química de la digesta afectan la masa del tracto gastrointestinal (Yamasaky et al., 2009). En este estudio no se vio afectado el peso de las diferentes componentes del tracto digestivo, lo que concuerda con diferentes estudios que incluyeron suplementación con frutos de leguminosas (Mireles et al., 2015; Al-klalasi y Mahgoub, 2018). El peso de los diferentes órganos (corazón, hígado, pulmones), no se afectó por la inclusión de harina de frutos de *A. farnesiana*, lo que nos indica que es un suplemento apto para el consumo de los animales. El peso de la grasa total resulto elevado esto debido a que se utilizaron dietas isoenergéticas e isoproteicas lo que resultó en la acumulación de grasa en los riñones y pericardio (Preziuso et al., 1999).

8.3. Calidad de la carne

La calidad de la carne engloba múltiples objetivos, el más importante de ellos es lograr un producto natural, inocuo y comercial, tomando en cuenta que los consumidores son cada vez más conscientes de los problemas que ocasiona el consumo excesivo de productos de origen rumiante, desde este punto de vista se han propuesto a productos elaborados a partir de plantas como alternativa para mejorar la calidad de la carne (Pannier et al., 2014).

Color de la carne. Este parámetro es uno de los atributos considerados por los consumidores como indicadores de calidad de la carne (Tomasevic et al., 2021), en las carnes rojas el color se ve afectado por los procesos oxidativos de la mioglobina lo que genera decoloración (Li et al., 2017). En este estudio no se observaron diferencias significativas ($P > 0.05$) en los valores de L^* , a^* y b^* por los tratamientos que contenían frutos de *A. farnesiana*. Sin embargo, el tiempo de maduración afectó el color ($P < 0.05$), los valores observados para L^* fueron menores a los reportados por Smeti et al. (2013), los valores de a^* y b^* tendieron a aumentar en todos los tratamientos. Este comportamiento coincide con lo reportado por Luciano et al. (2009) para b^* , no obstante, el valor de a^* de nuestro estudio fue contrario a lo observado por estos autores. Esto podría deberse al tiempo de evaluación ya que la medición de estos parámetros la realizaron a los 11 días de maduración. Por su parte Smeti et al. (2013) reportaron comportamiento similar para los valores de a^* al noveno día de maduración. Con el tiempo de almacenamiento los valores de b^* se correlacionan positivamente con la apreciación

sensorial de la degradación de la carne mientras que a^* se correlaciona negativamente con la degradación sensorial de color (Luciano et al., 2009).

Capacidad de Retención de Agua. Una de las principales características organolépticas de la carne es su jugosidad, que está relacionada con la capacidad de retención de agua, la cual se define como la capacidad de la carne fresca para retener su propia agua durante su procesamiento, almacenamiento y cocción (Kamruzzaman et al., 2016). Los resultados encontrados en este estudio muestran diferencias estadísticas para esta variable. Estudios previos por Ortiz-López et al., (2016) no encontraron efecto sobre esta variable al suplementar taninos condensados en la finalización de bovinos. Este parámetro se ve afectado drásticamente por diferentes factores como un descenso acelerado del pH (Jandasek et al., 2014; Zhang et al., 2013).

Fuerza de corte. La textura es una variedad de sensaciones relacionadas con la masticación, el corte y la penetración de la carne y es el parámetro más respetado por los consumidores (Holman et al., 2015). Las diferencias encontradas en este estudio, muestran tendencia a aumentar la fuerza de corte conforme se incrementó los niveles de inclusión de frutos de *A. farnesiana*, resultados que difieren con lo reportado por Al-klalasi y Mahgoub, (2018) quienes no reportaron diferencias estadísticas sobre la fuerza de corte de ovinos suplementados con frutos de *Prosopis juliflora* (3.9 kg). Este parámetro se encuentra estrechamente relacionado con factores como la capacidad de retención de agua, el tejido conectivo y las fibras musculares (Albarracín et al., 2016).

8.4. Efecto antiparasitario de los frutos de *A. farnesiana* sobre *H. contortus*

Los resultados del presente estudio muestran un claro efecto nematocidas del extracto y sus fracciones, obtenidas de las vainas de *A. farnesiana* contra larvas y huevos de *A. contortus*. Diversos estudios con leguminosas arbóreas han evidenciado importante actividad biológica como antioxidantes, antimicrobianas y antiparasitarias (Assefa et al., 2018), gracias a la gran variedad de metabolitos secundarios que poseen (González -Cortazar et al., 2018). En el presente estudio se alcanzó el 100 % de IEH y 100 % de mortalidad contra L₃ con 3.12 mg/mL y 25 mg/mL de la fracción orgánica respectivamente, mientras que el EHA alcanzó el 100 % de IEH con 50 mg/mL y solo 72 % mortalidad de L₃.

Los resultados demuestran que la actividad antihelmíntica del extracto de *A. farnesiana* es causada por los compuestos presentes en la fracción F-AcOEt, ya que la actividad de la fracción F-Aq fue mínima en ambas pruebas. Diversos estudios han reportado efecto antiparasitario de extractos hidroalcohólicos de diferentes plantas atribuyendo la actividad antihelmíntica a los compuestos secundarios, como derivados fenólicos, flavonoides, derivados cafeólicos y cumáricos (Olmedo - Juárez et al., 2017), ácido cafeico y quercetina (Castillo-Mitre et al. 2017) y miricetin (González - Cortazar et al., 2018). *Acacia farnesiana* es una de las plantas de mayor importancia medicinal del sistema ayurvédico y se ha utilizado para diversas actividades farmacológicas, actualmente es estudiada por la gran cantidad de compuestos fitoquímicos que posee; entre los que se han encontrado ácidos grasos ciclopropenoides, diferentes tipos de diterpenos conocidos como acaciane A, acaciane B, farnesiane A, farnesiane B, metil galato, naringenina, Kaempferol, quercetina y myricetin, algunos de estos con actividad antihelmíntica reportada en otras especies estudiadas (Castillo-Mitre et al., 2017; Von Son - de Fernex et al., 2015). Se han reportado estudios sobre la actividad antihelmíntica *in vitro* de diferentes dosis (25, 50, 75 y 100 mg/ml) del extracto metanólico de *A. farnesiana* contra *Pheretima posthuma*, en el que se obtuvieron resultados similares comparados con el uso de una droga comercial (albendazol al 0.5 % p/v), la forma de acción del extracto que observaron fue similar a la de la droga comercial ya que en ambas se observan parálisis (Suresh Kasala et al., 2017). En el presente estudio el posible modo de acción de los compuestos encontrados en las vainas de *A. farnesiana* afectan directamente pared del parásito, sin embargo, también se observó que el compuesto contenido en la fracción F-AcOEt, traspasó la membrana del huevo afectando directamente a la larva.

La identificación de propiedades nutraceuticas entre especies de plantas del bosque bajo caducifolio puede contribuir a la revalorización de este sistema de vegetación nativa y proporcionar información que permita el diseño de sistemas sostenibles de alimentación y manejo del ganado que beneficie la nutrición y la salud de los pequeños rumiantes y en última instancia la salud humana a través del consumo de productos animales producidos bajo el uso de estos recursos (Torrez-Fajardo et al., 2020).

IX. CONCLUSIÓN GENERAL

Los frutos de *Acacia farnesiana* poseen un alto valor nutracéutico, gracias al valor proteico que estos poseen, así como a los fitoquímicos bioactivos presentes. Estos compuestos pueden mejorar la salud y el bien estar de los ovinos por sus efectos antiparasitarios en contra del parásito *Haemonchus contortus*, así como mejorar la productividad y las características de los productos cárnicos que de esta actividad de derivan. Por lo tanto, de acuerdo a los resultados obtenidos en este trabajo los frutos de *Acacia farnesiana* constituyen un ingrediente importante a considerar en las dietas de pequeños rumiantes especialmente los ovinos.

X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Albarracín, W., Sánchez, I., Restrepo, L. 2016. Análisis sensorial de la textura en la maduración de la carne de cordero de pelo. *Vitae* 23 (Supl. 1).
- Álvarez G, L Melgarejo, Y Castañeda. 2003. Ganancia de peso, conversión y eficiencia alimentaria en ovinos alimentados con fruto (semilla con vaina) de parota (*Enterolobium cyclocarpum*) y pollinaza. *Vet Méx* 34, 39-46.
- AOAC (Association official Analytical Chemists). 1997. Official Methods of Analysis, 16th edition. AOAC, Arlington, VA, USA.
- Assefa, A., Kechero, Y., Tolemariam, T. Kebede, A., Shumi, E. 2018. Anthelmintic effects of indigenous multipurpose fodder tree extracts against *Haemonchus contortus*. *Trop Anim Health Prod* 50, 727–732. <https://doi.org/10.1007/s11250-017-1488-0>
- Alexander, G., Singh, B., Sahoo, A., Bhat, T.K. 2008. In vitro screening of plant extracts to enhance the efficiency of utilization of energy and nitrogen in ruminant diets. / *Animal Feed Science and Technology* 145 229–244.
- Al-Khalasi, S., Mahgoub, O. 2018. Carcass and Meat Quality Characteristics of Omani Sheep Fed Diets Based on Raw or Processed Mesquite (*Prosopis Juliflora*) Pods. *J Vet Sci Ani Husb* 6(2): 206.
- Ávalos-García, A., Pérez-Urria Carril, E. 2009. Metabolismo secundario en plantas. *Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal*. 2 (3): 119-145.
- Ayala-Burgos A.J., Capetillo –Leal C.M., Cetina-Góngora R.H., Zapata – Campos C., Sandoval - Castro C.A. 2006. Composición química - nutricional de árboles forrajeros. *Compilación de análisis de laboratorio de nutrición animal*. ISBN: 970-94223-2-4.
- Barrabí –Puertal, M., Arece-García, J. 2013. Actividad antihelmíntica in vitro de extracto acuoso de hojas y semillas de Neem (*Azadirachta indica* A. Juss). I. Inhibición de la eclosión de huevos y del desarrollo larvario. *Rev. Salud Anim*. Vol. 35 No. 2 (2013): 103-108.
- Barrientos-Ramírez, L., Vargas-Radillo, J.J., Rodríguez-Rivas, A., Ochoa-Ruíz, H.G., Navarro-Arzate, F., Zorrilla, J. 2012. Evaluación de las características del fruto de huizache (*Acacia farnesiana* (L.) Willd.)

para su posible uso en curtiduría o alimentación animal. *Madera y Bosques* 18 (3). <https://doi.org/10.21829/myb.2012.183356>.

Beltrán, J.A., Roncales, P. 2005. Determinación de la textura. En: estandarización de las metodologías para evaluar la calidad del producto (animal vivo, canal, carne y grasa) en los rumiantes. Monografías INIA: serie ganadera. pp. 237-242.

Beriain, M.J., Purroy, A., Treacher, T. and Bas, P., 2000. Effect of animal and nutritional factors and nutrition on lamb meat quality. *Sheep and goat nutrition: Intake, digestion, quality of products and rangelands*, pp.75-86

Bianchi, J. 2008. Un vistazo al sistema de tipificación de canales ovinas y su relación con la calidad del producto. *El país agropecuario*. Pp. 26-29.

Bodas, R., Prieto, N., García-González, R., Andrés, S., Giráldez, F.J., López, S. 2012. Manipulation of rumen fermentation and methane production with plant secondary metabolites. *Animal Feed Science and Technology*, Vol. 176, 1–4, 78-93. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2012.07.010>.

Botura, M.B., Silva, G.D., Lima, H.G., Oliveira, J.V., Souza, T.S., Santos, J.D., Branco, A., Moreira, E.L., Almeida, M.A., Batatinha, M.J. 2011. In vivo anthelmintic activity of an aqueous extract from sisal waste (*Agave sisalana* Perr.) against gastrointestinal nematodes in goats. *Vet Parasitol.* 177(1-2):104-10. doi: 10.1016/j.vetpar.2010.11.039.

Bratzler, L.J., 1949. Determining the tenderness of meat by use of the Warner-Bratzler method. In *Proc. Recip. Meat Conf* (Vol. 2, pp. 117-121).

Cañeque, V., Pérez, C., Velasco, S., Diaz, M.T., Lauzurica, S., Álvarez, I., De Huidobro, F.R., Onega, E. and De la Fuente, J., 2004. Carcass and meat quality of light lambs using principal component analysis. *Meat science*, 67(4), pp.595-605.

Cárdenas-Pérez, S., Méndez-Méndez, J.V., Chanona-Pérez, J.J., Artur Zdunek, Güemes-Vera, N., Calderón Domínguez, G., Rodríguez-González, F., 2017. Prediction of the nanomechanical properties of apple tissue during its ripening process from its firmness, colour and microstructural parameters. *Innov. Food Sci. Emerg. Tech.* 39, 79-87.

- Carro Travieso, María Dolores; Saro, C.; Mateos, I.; Díaz, A. y Ranilla, M. J. (2014). *Perspectivas y retos de los extractos vegetales como aditivos alimentarios en rumiantes*. "Albeitar" (n. 179); pp. 4-6. ISSN 1699-7883.
- Castillo-Mitre, G.F., Olmedo-Juárez, A., Rojo-Rubio, R., Cortázar-González, M., Mendoza-de Gives, P., Hernández-Beteta, E.E., Reyes-Guerrero, D.E., López-Arellano, M.E., Velázquez-Armijo, J.F., Ramírez-Vargas, G., Zamilpa, A. 2017. Caffeoyl and coumaroyl derivatives from *Acacia cochliacantha* exhibit ovicidal activity against *Haemonchus contortus*. *J. Ethnopharmacol.* 204:125–131.
- Castro-Montoya, J.M., Makkar, H.P.S., Becker, K. 2011. Chemical composition of rumen microbial fraction and fermentation parameters as affected by tannins and saponins using an in vitro rumen fermentation system. *Can. J. Anim. Sci.* 91: 433-448.
- Chan-Pérez, J.I., Torres-Acosta, J.F.J., Sandoval-Castro, C.A., Castañeda-Ramírez, G.S., Vilarem, G., Mathieu, C., Hoste, H. 2017. Susceptibility of ten *Haemonchus contortus* isolates from different geographical origins towards acetone:water extracts of polyphenol-rich plants, part 2: infective L3 larvae. *Vet Parasitol* 240:11–16.
- Chasquibol, S.N., Lengua, C.L., Delmás, I., Rivera, C.D., Bazán, D., Aguirre, M.R., Bravo, A. 2003. Alimentos funcionales o fitoquímicos, clasificación e importancia. *rev. per. quím. ing. quim.* vol. 5 n. 0 2. págs. 9-20.
- Coles, G.C., Bauer, C., Borgsteede, F., Geerts, S., Klei, T.R., Taylor, M.A., Waller, P.J., 1992. World association for advancement in veterinary parasitology (WAAVP) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Vet. Parasitol.* 44, 35–43
- Colomer-Rocher, F., Morand-Fehr, P. and Kirton, A.H., 1987. Standard methods and procedures for goat carcass evaluation, jointing and tissue separation. *Livestock Production Science*, 17, pp.149-159.
- CONABIO, 2009. *Acacia farnesiana* (L.) Willd. (1806). *Species Plantarum*. Editio quarta 4(2): 1083-1084. http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/info_especies/arboles/doctos/38-legum4m.pdf.
- Cortes-Morales, J. A., Olmedo-Juárez, A., Trejo-Tapia, G., González-Cortazar, M., Domínguez-Mendoza, B. E., Mendoza-de Gives, P., & Zamilpa, A. (2019). *In vitro ovicidal activity of Baccharis conferta Kunth against Haemonchus contortus*. *Experimental Parasitology* 197 (2019) 20–28.

- Cortés, J.E., Moreno, B., Pabón, M.L., Ávila, P., Kreuzer, M., Hess, H.D., Carulla, J.E. 2009. Effects of purified condensed tannins extracted from *Calliandra*, *Flemingia* and *Leucaena* on ruminal and post-ruminal degradation of soybean meal as estimated in vitro. *Ani. Feed Sci. and Technol.* 151 194–204.
- Cuchillo, H.M., Puga, D.C., Wrage-Mönning, N., Espinosa, M.J.G., Montaña, B.S., Navarro-Ocaña, A., Ledesma, J.A., Díaz, M.M., Pérez-Gil, R.F. 2013. Chemical composition, antioxidant activity and bioactive compounds of vegetation species by goats on semiarid rangelands. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 22, 106–115.
- De Jesús-Martínez, X., Olmedo-Juárez, A., Rojas Hernández, S., Zamilpa, A., Mendoza de Gives, P., López-Arellano, M.E., Villa-Mancera, A., Camacho-Díaz, L.M., Cipriano Salazar, M., Olivares-Pérez, J. 2019. Evaluation of the hydroalcoholic extract elaborated with *Caesalpinia coriaria* Jacq Willd tree fruits in the control of *Haemonchus contortus* Rudolphi. *Agroforest Syst.* 94, pages1315–1321
- Delgadillo-Puga, C., Cuchillo-Hilario, M., León-Ortiz, L., Ramírez-Rodríguez, A., Cabiddu, A., Navarro-Ocaña, A., Morales-Romero, A.M., Medina-Campos, O.N., Pedraza-Chaverri, J. 2019. Goats' Feeding Supplementation with *Acacia farnesiana* Pods and Their Relationship with Milk Composition: Fatty Acids, Polyphenols, and Antioxidant Activity. *Animals.* 9, 515; doi:10.3390/ani9080515.
- Dentinho, T.P., Belo, A.T., Bessa, R.J.B. 2014. Digestion, ruminal fermentation and microbial nitrogen supply in sheep fed soybean meal treated with *Cistus ladanifer* L. tannins. *Small Ruminant Research* 119 57–64.
- Deshmukh, S.P., Bhajipale, N.S. 2018. A Review on *Acacia* species of therapeutics importance. *International Journal of Pharmaceutical and Biological Science Archive.* Issue 4; Page No. 24-34.
- Durmic, Z., McSweeney, C.S., Kemp, G.W., Hutton, P., Wallace, R.J., Vercoe P.E. 2008. Australian plants with potential to inhibit bacteria and processes involved in ruminal biohydrogenation of fatty acids *Animal Feed Science and Technology* 145 271–284.
- Durmic, Z., Blache, D. 2012. Bioactive plants and plant products: Effects on animal function, health and welfare. *Animal Feed Science and Technology*, 176 (2012) 150– 162.
- 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. *Vet. Parasitol.* 205, 246-254.

Féboli, A., Laurentiz, C.A., CS-Soares, S., Augusto, J.G., Anjos, L. A., Magalhães, L.G., Filardi, R.S., Laurentiz, R.S. 2016. Ovicidal and larvicidal of extracts of *Opuntia ficus-indica* against gastrointestinal nematodes of naturally infected sheep. *Veterinary Parasitology* 226 65–68.

Ferreira, L.E., Castro, P.M.N., Chagas, A.C.S., França, S.C., Belebani, R.O. 2013. In vitro anthelmintic activity of aqueous leaf extract of *Annona muricata* L. (Annonaceae) against *Haemonchus contortus* from sheep. *Experimental Parasitology* 134, 327–332. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2013.03.032>.

Frutos, P., Hervás, G., Giráldez, F.J., Mantecón, A.R. 2004. Review. Tannins and ruminant nutrition. *Spanish Journal of Agricultural Research* 2 (2), 191-202.

García, E. 1988. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. 4ª ed. Instituto de Geografía. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F.

García-Hernández, C., Rojo-Rubio, R., Olmedo-Juárez, A., Zamilpa, A., Mendoza de Gives, P., Antonio-Romo, I.A., Aguilar-Marcelino, L., Arece-García, J., Tapia-Maruri, D., González-Cortazar, M. 2019. Galloyl derivatives from *Caesalpinia coriaria* exhibit in vitro ovicidal activity against cattle gastrointestinal parasitic nematodes. *Experimental Parasitology* 200, 16–23.

García-Winder, L.R., Goñi-Cedeño, S., Olguin-Lara, P. A., Díaz-Salgado, G., Arriaga-Jordán, C.M. 2009. «Huizache (*Acacia Farnesiana*) Whole Pods (Flesh and Seeds) as an Alternative Feed for Sheep in Mexico». *Tropical Animal Health and Production* 41 (8): 1615-21. <https://doi.org/10.1007/s11250-009-9355-2>.

Garrido, M.D., Bañón, S., Álvarez, D. 2005. Medida del PH. En: estandarización de las metodologías para evaluar la calidad del producto (animal vivo, canal, carne y grasa) en los rumiantes. Monografías INIA: serie ganadera. pp. 206-215.

Gebeyew, K., Beriso, K., Mohamed, A., G/silassie, G., Melaku, S., Worku, A. 2015. Review on the Nutritive Value of Some Selected Acacia Species for Livestock Production in Dryland Areas. *J Adv Dairy Res.* 3:2. DOI: 10.4172/2329-888X.1000139.

Gómez-Gurrola, A., Partida-Hernández, M., Ramírez-Duran, R., Ramírez-Ramírez, J.C., Gómez-Gurrola, J.A., González-Mormita, M., Sanginés-García, L. 2014. Efecto de la inclusión del fruto de *Guazuma ulmifolia*

como sustituto de maíz en la dieta sobre el comportamiento productivo y rendimiento en canal de ovinos pelibuey. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 17: 215 – 222.

González-Cortazar, M., Zamilpa, A, López-Arellano, M.E., Aguilar-Marcelino, L., Reyes-Guerrero, D.E., Olazarán-Jenkins, S., Ramírez-Vargas, G., Olmedo-Juárez, A., Mendoza-de Gives, P. 2018. Lysiloma acapulcensis leaves contain anthelmintic metabolites that reduce the gastrointestinal nematode egg population in sheep faeces. *Comp Clin Pathol* 27:189–197.

Gupta, R. C., Srivastava, A., & Lall, R. (Eds.). (2019). *Nutraceuticals in Veterinary Medicine*. doi:10.1007/978-3-030-04624-8.

Hassan I. El Sissi., Mohamed A. El Ansari., Sabry I. El Negoumy. 1993. *Phytochemistry*, 1973, Vol. 12, p. 230

Holman, B.W.B., Alvarenga, T.I., Van de Ven, R.J. and Hopkins, D.L., 2015. A comparison of technical replicate (cuts) effect on lamb Warner–Bratzler shear force measurement precision. *Meat Science*, 105, pp.93-95

Jaborek, J.R., Zerby, H.N., Moeller, S.J., Wick, M.P., Fluharty, F.L., Garza III H., Garcia, L.G., England, E.M. 2018. Effect of energy source and level, and animal age and sex on meat characteristics of sheep. *Small Ruminant Research* 166 53–60.

Jandasek, J., Milerski, M. and Lichovnikova, M., 2014. Effect of sire breed on physico-chemical and sensory characteristics of lamb meat. *Meat science*, 96(1), pp.88-93.

Kamruzzaman, M., Makino., Oshita, S. 2016. Hyperspectral imaging for real-time monitoring of water holding capacity in red meat. *LWT - Food Science and Technology* 66; 685-691.

Katiki, L. M., Barbieri, A. M. E., Araujo, R. C., Verissimo, C. J., Louvandini, H., & Ferreira, J. F. S. 2017. *Synergistic interaction of ten essential oils against Haemonchus contortus in vitro*. *Veterinary Parasitology*, 243, 47–51.

Khan, A., Tak, H., Nazir, R., Lone, B. 2018. In vitro and in vivo anthelmintic activities of *Iris kashmiriana* Linn. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*. 17, 235–240

Kirton, A.H., Feistand, C.L., Duganz, D.M. 1986. Prediction of ewe mutton carcass composition from carcass weight, GR and C measurements, and the Hennessy grading probe. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production* 1986. Vol. 46. 59-61.

- Knapik, J., Ropka-Molik, K. and Pieszka, M., 2017. Genetic and nutritional factors determining the production and quality of sheep meat—a review. *Annals of Animal Science*, 17(1), pp.23-40.
- Leyva, E., Navarro-Tovar, G., Loredó-Carrillo, S.E., Santos Díaz, M.S. 2011. Biosíntesis y actividad biológica de fitoestrógenos y fitoesteroides. *Bol. Soc. Quím. Méx.* 5(2,3), 35-43.
- Li, X., Zhang, Y., Li, Z., Li, M., Liu, Y., Zhang, D. 2017. The effect of temperature in the range of -0.8 to 4°C on lamb meat color stability. *Meat Science*. doi: 10.1016/j.meatsci.2017.07.010.
- Luciano, G., Monahan, F.J., Vasta, V., Biondi, L., Lanza M., Priolo, A. 2009. Dietary tannins improve lamb meat colour stability. *Meat Science*. 81:120–125.
- Macheboeuf, D., Morgavi, D.P., Papon, Y., Mousset, J.L., Arturo-Schaan, M. 2008. Dose–response effects of essential oils on *in vitro* fermentation activity of the rumen microbial population. *Animal Feed Science and Technology* 145: 335–350.
- McGeehin, B., Sheridan, J.J. and Butler, F., 2001. Factors affecting the pH decline in lamb after slaughter. *Meat Science*, 58(1), pp.79-84.
- Mendoza-Martínez G.D., Martínez-García J.A., Hernández-García P.A., Lee-Rangel H.A. 2018. Uso de productos herbales nutracéuticos en la alimentación de rumiantes: en *Avances de la Investigación Sobre Producción Animal y Seguridad Alimentaria en México*. Primera edición. ISBN: 978-607-542-022-6.
- Morales, R., Ungerfeld, E.M. 2015. Use of tannins to improve fatty acids profile of meat and milk quality in ruminants: A review. *Chilean journal of agricultural research* 75(2).
- Moya M.A., Escudero, V.G. 2015. Las plantas medicinales en el control de nemátodos gastrointestinales en cabras: potencial de las plantas que crecen en la región de Coquimbo, Chile. *Rev. Bras. Pl. Med., Campinas*, 17 (3) 480-494.
- Mendel, M., Chłopecka, M., Dziekan, N., Karlik, W. 2017. Phytogetic feed additives as potential gut contractility modifiers a review. *Animal Feed Science and Technology*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.05.008>.
- Mireles, E.J., Rodríguez, D., Jordán, H., Valdivia, M., Ramírez A., García, A., Olivares, J. 2015. Profile of fatty acids of *Longissimus dorsi* muscle and productive indicators of sheeps, supplemented with pods of

Acacia cochliacantha, in grasslands native to dry tropics. Cuban Journal of Agricultural Science, Volume 49, Number 3.

Mireles-Arriaga A. I., Ruiz-Nieto J.E., Hernández-Ruiz J., Hernández-Marín, J.A. 2018. Fitoquímicos antioxidantes alimentarios como estrategia de promoción de la estabilidad oxidativa de la carne de conejo. (*Oryctolagus cuniculus* L.). *Agroproductividad* 11 (6), 91-96.

Munguía-Xóchihua, Valenzuela-Medrano, J.W., Leyva-Corona, J.C., Morales-Pablos, M.I., Figueroa-Castillo, J.A. 2013. Potencial del orégano como alternativa natural para controlar *Haemonchus contortus* en ovinos de pelo. *Revista Latinoamericana De Recursos Naturales*, 9(1), 150-154.

Musharaf, K., Farrukh, H. 2012. Palatability and Animal Preferences of Plants in Tehsil Takht-e-Nasrati, District Karak, Pakistan. *African Journal of Agricultural Research* 7 (44): 5858-72. <https://doi.org/10.5897/AJAR12.2095>.

Nasri, N., Elfalleh, W., Tlili, N., Hannachi, H., Triki, S., Khaldi, A. 2012. Minor lipid components of some *Acacia* species: potential dietary health benefits of the unexploited sedes. *Lipids in Health and Disease*. 11:49. Norma oficial mexicana NMX-FF-106-SCFI-2006. Productos pecuarios - carne de ovino en canal-clasificación. <http://www.economia-nmx.gob.mx>.

NRC. 2007. Nutrient requirements of small ruminants, sheep, goats, cervids, and New World camelids. Animal Nutrition Series. The National Academy Press. Washington, DC, USA. Pp. 362.

Oh, J., Wall, E.H., Bravo, D.M., Hristov, A.N. 2017. Host-mediated effects of phytonutrients in ruminants: A review. *J Dairy Sci*. 100(7):5974-5983. doi: 10.3168/jds.2016-12341.

Olagaray, K.E., Bradford, B.J. 2019. Plant flavonoids to improve productivity of ruminants – A review, *Animal Feed Science and Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.02.004>.

Olivares-Pérez, J., Rojas-Hernandez, S., Camacho-Diaz, L.M., Cipriano-Salazar, M., A. Z. M. Salem. 2019. Fruits chemical composition and potential ruminal digestion of nine tree species in dry tropic region of Mexico. *Agroforest Syst* 93, 665–674. <https://doi.org/10.1007/s10457-017-0161-y>

Olmedo-Juárez, A., Rojo-Rubio, R., Zamilpa, A., Mendoza-de Gives, P., Arece-García, J., López-Arellano, M.E., von Son-de Fernex, E. 2017. In vitro larvicidal effect of a hydroalcoholic extract from *Acacia cochilacantha* leaf against ruminant parasitic nematodes. *Vet Res Commun* 41(3):227–232.

- Orlandi, T., Kozloski, G.V., Alves, T.P., Mesquita, F.R., Ávila, S.C. 2015. Digestibility, ruminal fermentation and duodenal flux of amino acids in steers fed grass forage plus concéntrate containing increasing levels of *Acacia mearnsii* tannin extract. *Ani. Feed Sci. and Technol.* 210 37–45.
- Ortiz-López, B., Mariezcurrena-Berasáin, M.A., Barajas-Cruz, R., López-Perea, P., Escalona-Buendía, H.B., Borquez-Gastelum, J.L., Mariezcurrena-Berasáin, M.D. 2016. Influence of tannins on the physical and sensory attributes of meat from feedlot cattle. *Rev Mex Cienc Pecu*;7(3):309-320.
- Ortuno, J., Serrano, R., Banón, S. 2015. Use of dietary rosemary diterpenes to extend the preservation of sulphited-lamb products. *Small Ruminant Research.* 123 269–277.
- Palma-García, J.M., González-Rebeles islas, C. 2018. Recursos arbóreos y arbustivos tropicales para una ganadería bovina sustentable. © UNIVERSIDAD DE COLIMA. ISBN: 978-607-8549-32-0. Pp. 9-12.
- Pannier, L., Gardner, G.E., Pearce, K.L., McDonagh, M., Ball, A.J., Jacob, R.H. and Pethick, D.W., 2014. Associations of sire estimated breeding values and objective meat quality measurements with sensory scores in Australian lamb. *Meat Science*, 96(2), pp.1076-1087.
- Partida de la Peña, J.A., Ríos-Rincón, F. G., De la Cruz-Colín, L., Domínguez-Vara, I.A., Buendía-Rodríguez, G. 2017. Caracterización de las canales ovinas producidas en México. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 8(3), 269-277. <https://dx.doi.org/10.22319/rmcp.v8i3.4203>.
- Patra, A.K., Saxena, J. 2009. Dietary phytochemicals as rumen modifiers: a review of the effects on microbial populations. *Antonie Van Leeuwenhoek.* 96(4):363-75. doi: 10.1007/s10482-009-9364-1.
- Pedraza, R.M. 2008. Metabolitos secundarios no fenólicos en el follaje de árboles y arbustos. Efecto en la fisiología digestiva de rumiantes. *Rev. prod. anim.*, 20 (2): 97-101.
- Peña-Torres, E.F., González-Ríos, H., Avendaño-Reyes, L., Valenzuela-Grijalva, N.V., Pinelli-Saavedra, A., Muhlia-Almazán, A., Peña-Ramos, E.A. 2019. Ácidos hidroxicinámicos en producción animal: farmacocinética, farmacodinamia y sus efectos como promotor de crecimiento. Revisión. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 10(2), 391-415. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v10i2.4526>.
- Peralta, N., Palma, J.M., Macedo, R. 2004. Efecto de diferentes niveles de inclusión de parota (*Enterolobium cyclocarpum*) en el desarrollo de ovinos en estabulación. *Livestock Research for Rural Development*, Vol. 16, Art. #4.

- Pérez-Pérez, C., Hernández-Villegas, M.M., de la Cruz-Burelo, P., Bolio-López, G.I., Hernández-Bolio, G.I. 2014. Efecto antihelmíntico in vitro del extracto metanólico de hojas de *Gliricidia sepium* contra nematodos gastrointestinales de ovinos. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, vol. 17, núm. 1, 2014, pp. 105-111.
- Piluzza, G., Viridis, S., Serralutzu, F., Bullitta, S. 2015. Uses of plants, animal and mineral substances in Mediterranean ethno-veterinary practices for the care of small ruminants. *J Ethnopharmacol.* 20;168:87-99. doi: 10.1016/j.jep.2015.03.056.
- Preziuso, G., Russo, C., Casarosa, L., Campodoni, G., Piloni, S. and Cianci, D., 1999. Effect of diet energy source on weight gain and carcass characteristics of lambs. *Small Ruminant Research*, 33(1), pp.9-15.
- Quiroz-Cardoso, F., Rojas-Hernández, S., Olivares-Pérez, J., Hernández-Castro, E., Jiménez-Guillén, R., Córdova-Izquierdo, A., Villa-Mancera, A., y Abdel-Fattah, S. 2015. Composición nutricional, consumo e índices de palatabilidad relativa de los frutos de tres acacias en la alimentación de ovejas y cabras. *Archivos de medicina veterinaria* 47 (1): 33-38. <https://doi.org/10.4067/S0301732X2015000100007>.
- Ramírez, R. G., Gonzalez-Rodriguez, H., Gómez-Mesa, M.V., Perez-Rodriguez, M.A. 1999. Feed Value of Foliage from *Acacia rigidula*, *Acacia berlandieri* and *Acacia farnesiana*. *Journal of Applied Animal Research*, 16:1, 23-32, DOI:10.1080/09712119.1999.9706259
- Ramírez-Retamal, J., Morales, R. 2014. Influence of breed and feeding on the main quality characteristics of sheep carcass and meat: A review. *Chilean Journal of Agricultural Research* 74(2).
- Rios, L. Y., Gonthier, M. P., Rémésy, C., Mila, I., Lapierre, C., Lazarus, S. A., et al. (2003). Chocolate intake increases urinary excretion of polyphenol-derived phenolic acids in healthy human subjects. *American Journal of Clinical Nutrition*, 77, 912–918.
- Ríos-Rincón, F.G., Barragán, H.B., Cerrillo-Soto, M.A., Estrada-Angulo, A., Juárez-Reyes, A.S., Obregón, J.F., Portillo-Loera, J.J. 2012. Carcass characteristics, primal cut yields and tissue composition of Katahdin x Pelibuey lambs fed cull-chickpeas. *Rev Mex Cienc Pecu*; 3(3):357-371.
- Rojas-Hernandez, S., Quiroz-Cardoso, F., Camacho-Díaz, L.M., Cipriano-Salazar, M., Ávila-Morales, B., Cruz-Lagunas, B., Jiménez-Guillén, R., Villa-Mancera, A., Abdelfattah, Z.M.S., Olivares-Pérez, J. 2015.

Productive Response and Apparent Digestibility of Sheep Fed on Nutritional Blocks with Fruits of *Acacia farnesiana* and *Acacia cochliacantha*. Life Science Journal. 12(2s).

Ruiz-de Huidobro, F., Miguel, E., Cañeque, V., Velasco, S. 2005. Clasificación y conformación de la canal ovina. En: estandarización de las metodologías para evaluar la calidad del producto (animal vivo, canal, carne y grasa) en los rumiantes. Monografías INIA: serie ganadera. pp. 143-169.

Rust, R.E., Olson, D.G., Kratzer, D.D., Schuler, R.O. and Vetter, R.L., 1970. M. Longissimus Area of Lamb Carcasses—A Comparison of Four Measurement Techniques and the Evaluation of Operator Differences. Journal of animal science, 30(1), pp.36-39.

Sahu, N.P., Koike, K., Banerjee, S., Achari, B., Jia, Z., Nikaido, T. 1997. A novel diterpene glycoside from the seeds of *Acacia farnesiana*. *Tetrahedron Letters*, 38(48), 8405–8408. doi:10.1016/s0040-4039(97)10233-7.

Santoro, G.F., Cardoso, M.G., Guimaraes, L.G.L., Salgado, A.P.S.P., Menna, B. R.F. & Soares, M.J. 2007. Effect of oregano (*Origanum vulgare* L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oils on *Trypanosoma cruzi* (Protozoa: Kinetoplastida) growth and ultrastructure. *Parasitol Res*, 100, 783-790.

SAS Institute, 2006. SAS User's guide: statistics, ver. 9.0. SAS Institute, Cary, USA.

SAS, SAS Online Doc Version 9.1.3.SAS, NC. USA, Cary.: 2014.

Shekhar, S.P., Manjulatha, K., Satyanarayan, N.D. 2017. Antiproliferative and dna cleavage activity of various solvent extracts of *acacia farnesiana* linn. Pod. Asian J Pharm Clin Res, Vol 10, Issue 9, 197-201.

Scull-Rodríguez, I., Savón-Valdés, L., Spengler-Salabarría, I., Herrera-Villafranca, M., González-Canavaciolo, V.L. 2018. Potentiality of the forage meal of *Stizolobium niveum* and *Stizolobium aterrimum* as a nutraceutical for animal feeding. Cuban Journal of Agricultural Science, (52) 2.

Sravani, T., Paarakh, P.P., Shruthi, S.D. 2014. In silico and in vitro anthelmintic activity of B-sitosterol isolated from rhizomes of *Hedychium spicatum* Buch.-Ham. Ind J Narutal Prod Resour. 5(3):258–61.

Smeti, S., Atti, N., Mahouachi, M., Munoz F. 2013. Use of dietary rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oils to increase the shelf life of Barbarine light lamb meat. Small Ruminant Research 113. 340–345.

Suresh Kasala, et al. 2017. Evaluation of In Vitro Anthelmintic Activity of *Acacia farnesiana* (L). Ijppr.Human, Vol. 9 (2): 1-5.

- Delgadillo Puga, C., Cuchillo Hilario, M, Espinosa Mendoza, G.E., Medina Campos, O., Molina Jijón, E., Díaz Martínez, M., Álvarez Izazaga, M.A., Ledesma Solano, J.A., Chaverri, J.P. 2015. Antioxidant activity and protection against oxidative-induced damage of Acacia and *Acacia farnesiana* pods extracts: in vitro and in vivo assays. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 15:435.
- Torres-Fajardo, R.A., González-Pech, P.G., Sandoval-Castro, C.A., Torres-Acosta, J.F.J. 2020. Small Ruminant Production Based on Rangelands to Optimize Animal Nutrition and Health: Building an Interdisciplinary Approach to Evaluate Nutraceutical Plants. Review. *Animals* 10.
- Torres, M. 2005. Capacidad de retención de agua. En: estandarización de las metodologías para evaluar la calidad del producto (animal vivo, canal, carne y grasa) en los rumiantes. Monografías INIA: serie ganadera. pp. 243-250.
- Tomasevic, I., Djekic, I., Font-i-Furnols, M., Terjung, N. and Lorenzo, J.M., 2021. Recent advances in meat color research. *Current Opinion in Food Science*, 41, pp.81-87.
- Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch carbohydrates in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* 74: 583- 597.
- Vasta, V., Luciano, G. 2011. The effects of dietary consumption of plants secondary compounds on small ruminants' products quality. *Small Ruminant Research* 101 150–159.
- Vasta, V. Mele, M., Serra, A., Scerra, M., Luciano, G., Lanza, M., Priolo, A. 2009. Metabolic fate of fatty acids involved in ruminal biohydrogenation in sheep fed concentrate or herbage with or without tannins. *J. Anim. Sci.* 2009. 87:2674–2684. doi:10.2527/jas.2008-1761.
- Vázquez-Soria, E.T., Méndez-Medina, D. 2011. Comportamiento productivo y características de la canal en corderos provenientes de la cruce de ovejas Katahdin con machos de cuatro razas cárnicas especializadas. *Rev Mex Cienc Pecu*; 2(3):247-258
- Ventura-Cordero., Pech-Cervantes, A., Sandoval-Castro, C.A., Torres-Acosta J.F., González-Pech P.G., Sarmiento-Franco, L.A. 2013. Relación herbívoro-tanino: adaptación de ovinos y caprinos a la vegetación rica en taninos de la Península de Yucatán. *Bioagrobiencias*, Vol. 6. No. 1
- Velázquez, A.J., González., Perezgrovas, R., Bórquez, J., Domínguez, I. 2011. Producción, digestibilidad y rentabilidad en corderos de dietas con vainas de *Acacia farnesiana*. *Archivos de Zootecnia* 60 (231): 479-88. <https://doi.org/10.4321/S0004-05922011000300037>.

- Velázquez, A.J. 1, González R.M., Bórquez, J., Domínguez, I.A. Perezgrovas, R. 2011. Composición química y producción de gas *in vitro* de dietas con vainas de *acacia farnesiana*. Arch. Zootec. 60 (231): 637-645.
- Vélez-Terranova, M., Campos-Gaona, R., Sánchez-Guerrero, H. 2014. Uso de metabolitos secundarios de las plantas para reducir la metanogénesis ruminal. Tropical and Subtropical Agroecosystems, 17 489 – 499.
- Verma, N., Shukla, S. 2015. Impact of various factors responsible for fluctuation in plant secondary metabolites. Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants. Vol. 2, (4), 105-113. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2015.09.002>.
- von Son-de Fernex E, Alonso-Diaz MA, Mendoza-de Gives P, Valles-de la Mora B, Gonzalez-Cortazar M, Zamilpa A, Epigmenio CG. Elucidation of *Leucaena leucocephala* anthelmintic-like phytochemicals and the ultrastructural damage generated to eggs of *Cooperia* spp. Veterinary Parasitology. 2015; <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.10.005>.
- Wagner, H., Bladt, S. 2001. Plant drug analysis. Second edition. Pp.
- Wanapat, M., Cherdthong, A., Phesatcha, K., Kang, S., 2015. Dietary sources and their effects on animal production and environmental sustainability. Anim. Nutr. 1, 96–103. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2015.07.004>
- Wang, J.,Ye, J., Liu, J. 2012. Effects of tea saponins on rumen microbiota, rumen fermentation, methane production and growth performance—a review. Tropical Animal Health and Production, 44:697–706.
- Williams, A.R., Peña-Espinoza, M.A., Boas, U., Simonsen, H.T., Enemark, H.L., Thamsborg, S.M. 2016. Anthelmintic activity of chicory (*Cichorium intybus*): *in vitro* effects on swine nematodes and relationship to sesquiterpene lactone composition. Parasitology. 143(6):770–7.
- Yamazaki, A., Choki, S., Kakizaki, T., Matsuura, A., Irimajiri, M. and Hodate, K., 2009. Comparison of passage rate, structure and motility of the reticulo-rumen in two sheep breeds. Ruminant physiology: Digestion, metabolism and effects of nutrition on reproduction and welfare, p.404.
- Zhang, Y., Luo, H., Chen, Y., Yan, L., Chang, Y., Jiao, L. and Liu, K., 2013. Effects of liquorice extract on the pH value, temperature, drip loss, and meat color during aging of *Longissimus dorsi* muscle in Tan sheep. Small Ruminant Research, 113(1), pp.98-102.

