

# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS, INGENIERÍA Y  
MEDICINA

PROGRAMAS MULTIDISCIPLINARIOS DE POSGRADO EN  
CIENCIAS AMBIENTALES

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
**DOCTORADO EN CIENCIAS AMBIENTALES**

**VALORACIÓN BIOLÓGICA DE *Larrea tridentata* EN ANIMALES**

PRESENTA:

**ISRAEL HERNÁNDEZ BÁEZ**

**CO DIRECTORES DE TESIS:**

DR. JUAN CARLOS GARCÍA LÓPEZ

DR. JUAN MANUEL PINOS RODRÍGUEZ

**ASESOR:**

DR. GUILLERMO ESPINOSA REYES

**DICIEMBRE DE 2019**

# **CRÉDITOS INSTITUCIONALES**

## **PROYECTO REALIZADO EN:**

Centro de Biociencias,  
Facultad de Agronomía y Veterinaria,  
Instituto de Investigación en Zonas Desérticas,  
Coordinación para la Innovación y Aplicación de la Ciencia y la Tecnología,  
Universidad Autónoma de San Luis Potosí

## **CON FINANCIAMIENTO DE:**

Nutrición y Genética Saludable, S.A. de C.V. León, Guanajuato. Con recursos del  
FINNOVA número 190601. 2012-02 CONACYT, México

## **A TRAVÉS DEL PROYECTO DENOMINADO:**

Nuevo Aditivo Alimenticio 100% Natural Orgánico como Alternativa a los  
antibióticos usados en el Sector Animal

## **AGRADEZCO A CONACYT EL OTORGAMIENTO DE LA BECA-TESIS**

Becario No. 274219

**EL DOCTORADO EN CIENCIAS AMBIENTALES RECIBE APOYO  
ATRAVÉS DEL PROGRAMA NACIONAL DE POSGRADOS DE  
CALIDAD (PNPC)**

Dedico el esfuerzo y tiempo detrás de este trabajo a:

A DIOS, ANTE TODO

A MI FAMILIA

A mi esposa Beatriz Areli y mi hija Emma Zorel.

A mi hija, Akari Michel.

A mi madre Rosa Margarita Báez Guerrero

A mis hermanos, Eduardo Manuel y Rosa Margarita.

AL RECUERDO DE

Mi padre, Víctor Manuel Hernández Colorado

Mi abuelo, Napoleón Báez Guerra.

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios, ante todo. Por esta vida, por su guía y por haber coincidido con las personas indicadas para llegar hasta aquí.

A mi Comité Tutorial, por haberme aceptado como su alumno, por sus enseñanzas, por su apoyo y por su ejemplo.

A mi madre, Rosa Margarita Báez Guerrero por el apoyo, la guía y el amor que me ha dado en todo momento sin condición alguna.

A todos los colaboradores involucrados en este trabajo, entre ellos:

- Dra. Sandra Orta García, por la planeación, y desarrollo de las pruebas de laboratorio; por su amistad, sus enseñanzas y su apoyo.
- Del Centro de Biociencias, a Rubén Limón por su ayuda en la toma de muestras y a Luis Delgado Celis y Jesús Reyes por las facilidades brindadas.
- Al Dr. Samuel López Aguirre por su ayuda para el procesamiento de muestras en el Instituto de Investigación en Zonas Desérticas.
- Al Dr. Héctor Lee, Jorge Cayetano, Oswaldo Cifuentes y Alejandro Roque de la Facultad de Agronomía y Veterinaria por su apoyo con los borregos.
- Al Dr. Iván Nelinho Pérez Maldonado, Dra. Sandra Orta, Dra. Ángeles Catalina Ochoa, por su valiosa ayuda en las pruebas de citometría de flujo.
- A la M.C. Romy Patricia Díaz Pérez, por su capacitación, su amistad y su ayuda en los procedimientos del ensayo cometa.
- A la Dra. Beatriz Areli Zuki Orozco, por dedicar parte importante de su tiempo de estudio para ayudarme a realizar los procedimientos de laboratorio.

Al Dr. Gregorio Álvarez Fuentes y al Dr. Argel Flores Primo, por hacer un esfuerzo y formar parte de mi jurado evaluador. Muchas gracias por sus observaciones.

Al Dr. Ignacio Arturo Domínguez Vara, por su apoyo conjunto con el Dr. Juan Manuel Pinos Rodríguez para la presentación de este trabajo en congresos y realizar una estancia doctoral en España.

A la Dra. Carmen Olivan García, no solo por haberme recibido en el Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Alimentario SERIDA en Villaviciosa, Asturias, sino también por su gentileza y amabilidad que me brindó al convivir con su familia.

Al Dr. Fernando Díaz Martínez, por recibirme en los laboratorios del Departamento de Morfología y Biología Celular de la Universidad de Oviedo. Por su amistad y la calidez de su familia.

A todas las personas, familiares, compañeros y amigos que tuvieron a bien aligerar mi carga y compartir estas experiencias; por tener presto una palabra alentadora, un oído paciente y un consejo sabio. Muchas gracias!

*La constancia y el estudio hacen a los hombres grandes, y  
los hombres grandes son el porvenir de la patria.*

*Benito Pablo Juárez García*

# ÍNDICE GENERAL

|  |    |
|--|----|
| ÍNDICE DE ILUSTRACIONES .....  | 9  |
| ÍNDICE DE FIGURAS .....  | 10 |
| ÍNDICE DE TABLAS .....   | 11 |
| RESUMEN GENERAL .....  | 12 |
| ABSTRACT.....  | 14 |
| CAPÍTULO I. <i>Larrea tridentata</i> (GOBERNADORA) .....                         | 17 |
| Historia .....   | 17 |
| Clasificación taxonómica .....   | 18 |
| Descripción botánica .....   | 19 |
| Características generales.....   | 20 |
| Principales usos .....   | 21 |
| Composición.....   | 23 |
| Actividad farmacológica .....  | 25 |
| Actividad antimicrobiana .....   | 26 |
| Farmacocinética y toxicidad del NDGA.....  | 26 |
| Inducción de apoptosis.....  | 29 |
| Referencias.....   | 30 |
| CAPÍTULO II. <i>Larrea tridentata</i> COMO FORRAJE PARA CORDEROS DE ENGORDA..... | 41 |
| Resumen .....  | 41 |
| Introducción .....   | 42 |
| Revisión de literatura .....   | 44 |
| La Ovinocultura en México.....   | 44 |
| Alimentación del borrego.....  | 45 |
| Costos de alimentación .....   | 45 |
| Alimentos alternativos en la alimentación del borrego.....                       | 46 |
| Alimentos funcionales.....   | 48 |
| Coccidiosis ovina .....  | 48 |
| Materiales y métodos .....   | 50 |
| Recolección de la planta.....  | 50 |
| Formulación de dietas.....   | 52 |

|   |            |
|---|------------|
| Diseño experimental, animales e instalaciones .....   | 54         |
| Ensayo de crecimiento .....   | 55         |
| Cuantificación de protozoarios en líquido ruminal.....  | 57         |
| Cuantificación de <i>Eimeria</i> spp. en heces. ....  | 57         |
| Sacrificio .....  | 57         |
| Análisis estadístico .....  | 59         |
| Resultados y discusión .....  | 59         |
| Conclusiones .....  | 66         |
| Referencias.....  | 66         |
| <b>CAPÍTULO III. GENERACIÓN DE ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO Y DAÑO AL ADN EN CORDEROS</b><br>..... | <b>77</b>  |
| Resumen .....   | 77         |
| Introducción .....  | 78         |
| Revisión de literatura .....  | 82         |
| La generación de especies reactivas de oxígeno y el estrés oxidativo .....                          | 82         |
| Prooxidantes .....  | 82         |
| Daño al ADN .....   | 84         |
| Antioxidantes .....   | 85         |
| Materiales y métodos .....  | 86         |
| Especies reactivas de oxígeno (ROS) .....   | 86         |
| Daño al ADN (Ensayo Cometa) .....   | 88         |
| Análisis estadístico .....  | 91         |
| Resultados y discusión .....  | 91         |
| Conclusiones .....  | 100        |
| Referencias.....  | 101        |
| <b>CONCLUSIONES GENERALES.....</b>  | <b>111</b> |
| Anexo 1 .....   | 113        |

## ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

|   |    |
|---|----|
| <b>Ilustración 1.</b> Ejemplar de gobernadora ( <i>Larrea tridentata</i> ) en la localidad de El Huizache, municipio de Soledad de Graciano Sánchez, S.L.P..... | 51 |
| <b>Ilustración 2.</b> Secado bajo la sombra de gobernadora.....   | 51 |
| <b>Ilustración 3.</b> Molino de martillos .....   | 52 |
| <b>Ilustración 4.</b> Criba de $\frac{1}{4}$ para molino de martillos .....   | 52 |
| <b>Ilustración 5.</b> Mezcladora horizontal de paletas .....  | 53 |
| <b>Ilustración 6.</b> Jaulas metabólicas para ovinos.....   | 55 |
| <b>Ilustración 7.</b> Pesaje del alimento rechazado y cálculo de raciones diarias .....   | 56 |
| <b>Ilustración 8.</b> Canales de corderos, vista dorsal y ventral .....   | 59 |



## ÍNDICE DE FIGURAS

|   |           |
|---|-----------|
| <b>Figura 1.</b> Distribución geográfica conocida de <i>Larrea tridentata</i> (Norteamérica) y <i>L. divaricata</i> (Sudamérica). .....   | 18        |
| <b>Figura 2.</b> Medición del daño al ADN .....   | 90        |
| <b>Figura 3.</b> Histogramas de cuantificación intracelular de ROS por citometría de flujo en células mononucleares de corderos alimentados con dietas con 0% (CON), 5% (LT50) y 10 % (LT100) de <i>L. tridentata</i> . ..... | 92        |
| <b>Figura 4.</b> Daño al ADN (OTM) .....  | <b>95</b> |
| <b>Figura 5.</b> Daño al ADN (Longitud de cola) .....   | 96        |
| <b>Figura 6.</b> Daño al ADN (% de ADN en la cola) .....  | 97        |
| <b>Figura 7.</b> Daño al ADN en células mononucleares de corderos (200X) .....  | 97        |

## ÍNDICE DE TABLAS

|   |    |
|---|----|
| <b>Tabla 1.</b> Ingredientes de las dietas experimentales para corderos de finalización   | 54 |
| <b>Tabla 2.</b> Análisis proximal de las dietas experimentales para corderos .....  | 60 |
| <b>Tabla 3.</b> Variables productivas de corderos alimentados con dietas con 0 (CON), 5 (LT50) y 10 % (LT100) de <i>L. tridentata</i> .....   | 62 |
| <b>Tabla 4.</b> Valores de pH y número de protozoarios en fluido ruminal, y número de ooquistes en heces de corderos alimentados con dietas con 0 (CON), 5 (LT50) y 10 % (LT100) de <i>L. tridentata</i> .....  | 63 |
| <b>Tabla 5.</b> Características de canales de corderos alimentados con dietas con 0 (CON), 5 (LT50) y 10 % (LT100) de <i>L. tridentata</i> .....  | 64 |
| <b>Tabla 6.</b> Rendimiento de canales de corderos alimentados con dietas con 0 (CON), 5 (LT50) y 10 % (LT100) de <i>L. tridentata</i> .....  | 64 |
| <b>Tabla 7.</b> Concentración de ácido nordihidroguaiarético (NDGA) en hojas secas de <i>L. tridentata</i> .....  | 79 |
| <b>Tabla 8.</b> Valores para el cálculo del consumo de NDGA.....  | 90 |
| <b>Tabla 9.</b> Cuantificación intracelular de especies reactivas de oxígeno en células mononucleares de corderos alimentados con dietas con 0 % (CON), 5 % (LT50) y 10 % (LT100) de <i>L. tridentata</i> ..... | 91 |
| <b>Tabla 10.</b> Ensayo cometa en células mononucleares de corderos alimentados con dietas con 0 % (CON), 5 % (LT50) y 10 % (LT100) de <i>L. tridentata</i> .....   | 94 |
| <b>Tabla 11.</b> Rangos de consumos de NDGA de corderos alimentados con dietas con <i>L. tridentata</i> .....   | 99 |

## RESUMEN GENERAL

La utilización y aprovechamiento sustentable de los recursos vegetales disponibles en una región, es una de las prioridades para el desarrollo económico de sus habitantes. Para lograr este objetivo, es imprescindible conocer las características de estos recursos y evaluar sus efectos. El objetivo de esta investigación fue conocer el valor biológico de *Larrea tridentata* (gobernadora) como alimento funcional para animales, a través de la evaluación productiva de corderos alimentados con gobernadora como forraje; la cuantificación de protozoarios y ooquistes de *Eimeria* spp. en fluido ruminal y heces respectivamente; y su efecto toxicológico, con estrés oxidativo (ROS) y genotoxicidad (ensayo cometa) como indicadores. Se obtuvieron plantas de gobernadora (tronco, tallo y hoja) que fueron incorporadas a dietas con 0 (control), 5 y 10% (base seca) como forraje. Las dietas se asignaron aleatoriamente a 21 corderos Rambouillet, los cuales fueron alimentados exclusivamente con estas dietas durante 60 días. Los resultados indican una reducción en el consumo de materia seca por día ( $p < 0.05$ ) en los grupos alimentados con gobernadora y una mejoría en la conversión de alimento en el grupo asociado al 10% de gobernadora ( $p < 0.05$ ). Al final del ensayo se tomaron muestras de fluido ruminal, heces y sangre periférica, observando una menor presencia de protozoarios y ooquistes de *Eimeria* ( $p < 0.05$ ) en animales alimentados con una mayor proporción de gobernadora. De igual manera, se observó una disminución en el estrés oxidativo ( $p < 0.05$ ) y una menor fragmentación de fibras simples de ADN ( $p < 0.05$ ) asociado a un mayor consumo de gobernadora. Lo anterior indica que la utilización de *Larrea tridentata* como forraje en la alimentación

de corderos favorece una disminución en los costos de producción, haciéndola más redituable; las propiedades antiparasitarias y antioxidantes de *Larrea tridentata* contrarrestan los efectos del daño a los organismos de los corderos en una engorda tradicional. Estos resultados proporcionan un marco teórico para la inclusión de ingredientes alternativos en la alimentación de animales de producción, así como una ventana de oportunidad para el aprovechamiento de los recursos vegetales disponibles en las zonas áridas de nuestro país.

**PALABRAS CLAVE:** *Larrea tridentata*, GOBERNADORA, FORRAJE, CORDEROS, ESTRÉS OXIDATIVO, ENSAYO COMETA.

## ABSTRACT

The sustainable use and exploitation of the available plant resources in a region is one of the priorities for the economic development of its inhabitants. To achieve this objective, it is essential to know the characteristics of these resources and evaluate their effects. The objective of this research was to know the biological value of *Larrea tridentata* (creosote bush) as functional food for animals, through the productive evaluation of lambs fed with creosote bush as forage; the quantification of protozoa and oocysts of *Eimeria* spp. in rumen fluid and feces respectively; and its toxicological effect, with oxidative stress (ROS) and genotoxicity (comet assay) as indicators. Creosote bush (trunk, stem and leaf) were obtained that were incorporated into diets with 0 (control), 5 and 10% (dry base) as forage. The diets were randomly assigned to 21 Rambouillet lambs, which were fed exclusively with these diets for 60 days. The results indicate a reduction in the consumption of dry matter per day ( $p < 0.05$ ) in the groups fed with creosote bush and an improvement in the conversion of food in the group associated to 10% of creosote bush ( $p < 0.05$ ). At the end of the test, samples of ruminal fluid, feces and peripheral blood were taken, observing a lower presence of protozoa and *Eimeria* oocysts ( $p < 0.05$ ) in animals fed with a higher proportion of creosote bush. Similarly, a decrease in oxidative stress ( $p < 0.05$ ) and a lower fragmentation of simple DNA fibers ( $p < 0.05$ ) associated with greater creosote bush consumption were observed. This indicates that the use of *Larrea tridentata* as forage in the feeding of lambs favors a decrease in production costs, making it more profitable; the antiparasitic and antioxidant properties of *Larrea tridentata* counteract the effects of damage to lamb organisms

in a traditional fattening. These results provide a theoretical framework for the inclusion of alternative ingredients in the feeding of production animals, as well as a window of opportunity for the use of available plant resources in the arid areas of our country.

**KEY WORDS:** *Larrea tridentata*, CREOSOTE BUSH, FORAGE, LAMBS, OXIDATIVE STRESS, COMET ASSAY.

# CAPÍTULO I

## **CAPÍTULO I. *Larrea tridentata* (GOBERNADORA)**

### **Historia**

Los primeros conocimientos que se tuvieron de las plantas del género *Larrea* fueron descritas a inicios del siglo XIX por el botánico español Antonio José de Cavanilles (Cavanilles, 1800). Este género es de origen sudamericano y cuenta con cinco especies: *L. Ameghinoi*, *L. Cuneifolia*, *L. Divaricata*, *L. nítida*, que crecen principalmente en Argentina, Chile, Bolivia y Perú; y *L. tridentata* que crece en el norte de México y sur de Estados Unidos de América (Rzedowski, 2006; González, 2012a) (*Figura 1*). Este tipo de plantas no prosperan en climas isoterms, por lo que no crecen en zonas cercanas a la línea ecuatorial (García *et al.*, 1966, citado en Rzedowski, 2006).

Los arbustos del género *Larrea* fueron nombradas en honor a José Antonio Hernández y Pérez de Larrea, canónigo y botánico español del siglo XVIII que realizó grandes aportes para el desarrollo de la botánica y la agricultura. A pesar de que las primeras especies del género *Larrea* se conocieron a principios del siglo XIX, fue hasta 1893 que el curador botánico estadounidense Frederic Vernon Coville catalogó en el libro *Contributions from the United States National Herbarium* a una nueva especie de *Larrea* como *Larrea tridentata*, tomando los escritos del naturalista suizo Moïse Étienne Stefano Moricand del libro *Plantes Nouvelles D'Amérique* de 1836 (Coville, 1893).





Figura 1. Distribución geográfica conocida de *Larrea tridentata* (Norteamérica) y *L. divaricata* (Sudamérica).

Fuente: Rzedowski, 2006.

Originalmente, el primer nombre que tuvo la planta fue el de *Larrea mexicana* debido a que la planta se encontró en el Valle de la Muerte en los estados de California y Nevada cuando formaban parte del territorio mexicano. Sin embargo, cuando fue catalogada por Coville en 1893, esta región ya formaba parte de los Estados Unidos, debido a lo cual, probablemente, fue catalogada con el nombre que ahora conocemos.

### Clasificación taxonómica

Reino: *Plantae*

Subreino: *Tracheobionta*

División: *Magnoliophyta*  
Clase: *Magnoliopsida*  
Orden: *Zygophyllales*  
Familia: *Zygophyllaceae*  
Subfamilia: *Larreoideae*  
Género: *Larrea*  
Especie: *L. tridentata*

(Vázquez *et al.*, 1999)

### **Descripción botánica**

Los arbustos de *L. tridentata* son las plantas más predominantes y ampliamente distribuidas en las zonas en donde se encuentran. Son plantas muy amigables entre sí, se agrupan formando cinturones o áreas que se distribuyen en la mayoría de las zonas áridas del centro y norte de México y el sur de Estados Unidos (Merriam, 1893).

Los matorrales de *L. tridentata* son arbustos xerófilos perennifolios de múltiples ramas que crecen desde la base del tronco. Las ramas carecen de espinas y están formadas por hojas sencillas, cubiertas por una sustancia resinosa secretada por una cadena de estípulas cercanas al nudo, que les proporciona un olor penetrante y sabor amargo. Los arbustos son esencialmente siempre verdes la mayor parte del año, aunque el color del follaje dominante se torna café amarillento e incluso llega a perderse parcialmente si la sequía es muy acentuada y persistente. Tienen una

altura aproximada entre 0.6 y 3 m. El tallo es de color café negruzco. Las hojas están formadas por 2 folíolos con forma de lanza (lanceolados), miden de 4 a 15 mm de largo por 3 a 8 mm de ancho y se unen oblicuamente formando un ángulo abierto (divaricado) con respecto al tallo. Sus frutos son subglobosos a obovoides, de 7 mm de largo, coriáceos, con pelos blancos, sedosos, que se vuelven café-rojizos con el tiempo y 5 mericarpios con una semilla cada uno. La copa tiene un volumen promedio de 0.124 m<sup>3</sup> por arbusto. Su reproducción es vegetativa asexual, por lo que estas plantas pueden sobrevivir cientos o miles de años a través de los retoños que después se convierten en nuevas plantas (Arteaga *et al.*, 2005; González, 2012a; López, 2017; Rzedowski, 2006; Vázquez *et al.*, 1999; Lira, 2003).

### **Características generales**

El arbusto de *L. tridentata* ha sido nombrada coloquialmente de distintas maneras, dependiendo de la zona en la que se encuentre. En Estados Unidos se le conoce principalmente como Creosota (Creosote bush), Chaparral y Greasewood. En México se le conoce como guamis entre los pueblos tarahumaras de Chihuahua o como sonora, tasajo, jarrilla, hedionda o hediondilla, por el olor característico que tiene pero principalmente es conocida como Gobernadora (Arteaga *et al.*, 2005; Lira, 2003), debido a que la *L. tridentata* del desierto mexicano, posee un sistema de raíces muy extenso y profundo para absorber toda el agua de las proximidades (Maidana, 2017), compitiendo por el mismo recurso con las plantas vecinas. En algunas zonas de cultivo en donde se siembra forraje para la alimentación del ganado, la *L. tridentata* es considerada como una planta indeseable debido a que

los cultivos se ven desplazados por su carácter invasivo (Irigoyen-Rascón y Paredes, 2015). A pesar de no poseer de adaptaciones morfológicas para afrontar a las sequías o protegerse de los predadores, como hojas suculentas o espinas, la *L. tridentata* poseen una sustancia resinosa en las hojas y tallos que expele un olor fuerte y que le confiere un sabor desagradable, de esta manera evita ser molestada por los animales o insectos (Rzedowski, 2006). En estudios realizados por González *et al.* (1988) se observó actividad tóxica para insectos. Además del olor y sabor, los compuestos polifenólicos que están constituidos en la resina forman complejos con las proteínas y el almidón, lo cual los hace indigeribles para los insectos (Lambert *et al.*, 2004).

La resina que recubre hojas y tallos de *L. tridentata* constituye el 20 % del peso seco en hojas jóvenes mientras que sólo el 10% en hojas maduras. Esta resina en su mayoría está constituida por compuestos fenólicos y terpenos que actúan como transportadores de los compuestos no polares, los cuales se volatilizan (Leonforte, 1986; González *et al.*, 1988). La resina tiene como función reducir la transpiración y proteger a la planta de la radiación UV, mediante la absorción o reflejo de una parte del espectro de luz (González *et al.*, 1988).

### **Principales usos**

*L. tridentata* ha sido usada de manera tradicional durante siglos. Los indios que habitaron América del Norte la usaban para tratar diversas enfermedades (Martins *et al.*, 2012). Las hojas eran utilizadas para preparar infusiones para tratar

enfermedades renales y biliares, reumatismo, artritis, diabetes, algunos tumores, enfermedades venéreas, resfriados, cólicos intestinales y para estimular la producción de orina; mientras que de manera tópica se usaba para tratar quemaduras y llagas, lesiones de varicela, reumatismo y otras afecciones de la piel (Waller y Gisvold, 1945; Martins *et al.*, 2012). En la actualidad, las hojas y las ramas se siguen utilizando tradicionalmente para preparar infusiones, pero también son preparadas para consumirse de manera oral en forma de cápsulas o tabletas. (Arteaga *et al.*, 2005). La concentración de *L. tridentata* encontrada en estos productos va de los 100 a los 480 mg por tableta (Sheikh *et al.*, 1997). Cuando se consume la planta en forma de infusión, solo el 40% de los principales componentes fenólicos están disponibles (Smart *et al.*, 1969), debido a la insolubilidad de estos compuestos en agua (Valentine *et al.*, 1984). Esta concentración puede reducirse si se deja reposar la bebida durante varios días (De Smet, 1993). En México, la infusión ha sido tradicionalmente usada como un tratamiento de los cálculos renales y de la vesícula biliar (De Smet, 1993). El uso actual está limitado por los informes de hepatitis tóxica (Brent, 1999) y un caso de enfermedad renal quística (Smith, 1994) asociado con su uso crónico (Arteaga *et al.*, 2005). Entre las propiedades medicinales de *L. tridentata*, la más importante es su capacidad como antioxidante (Sheikh *et al.*, 1997).

Otro los usos prácticos de *Larrea tridentata* incluyen su uso como estabilizador de polímeros, lubricantes, caucho, aceites de perfumería y como desarrollador en fotografía. En las décadas de 1950 y 1960, uno de los compuestos de la *L. tridentata*, el NDGA, se utilizó en los Estados Unidos como conservador de

alimentos, grasas, manteca de cerdo y otros productos. A pesar de tener un alto valor nutricional para el ganado comparable con la alfalfa, *L. tridentata* no se utiliza de manera regular en la alimentación del ganado debido a su reducida palatabilidad (Duisberg *et al.*, 1949). Sin embargo, en la ganadería extensiva esta planta es un recurso forrajero para el ganado caprino en época de estiaje (Mellado *et al.*, 1991; Mellado, 2005; Rossi *et al.*, 2008) y también es consumida habitualmente por otros mamíferos herbívoros como *Neotoma lepida* (Sorensen *et al.*, 2005; Torregrosa *et al.*, 2012; Kohl *et al.*, 2014).

### **Composición**

El principal compuesto fenólico es un lignano catecol ácido nordihidroguayarético (NDGA). Este metabolito secundario es el más abundante en *L. tridentata* y es uno de los compuestos con mayor presencia en las hojas (González *et al.*, 1988; Waller y Gisvold, 1945; Duisberg *et al.*, 1945; Valentine *et al.*, 1984; Wellendorf, 1964; Arteaga *et al.*, 2005). Las hojas y pequeñas ramas también contienen otros compuestos fenólicos en menor cantidad como el norisoguayacín, ácido dihidroguayarético, ácido dihidroguayarético parcialmente desmetilado y el 3'-desmetoxiisoguayacín (Gisvold y Thaker, 1974).

En los años 40's, el NDGA era considerado un antioxidante alimentario relativamente no tóxico (Oliveto, 1972). Los primeros aislamientos del NDGA fueron realizados por Waller y Gisvold en 1945. Fue patentado varias veces en la década de 1940 y hasta 1967 se utilizó como un elemento antioxidante inhibidor de la

glucólisis aeróbica en la elaboración de productos alimenticios y farmacéuticos, posteriormente fue eliminado de la lista de sustancias reconocidas como seguras (Barceloux, 2008). En la actualidad, al NDGA se le conoce por su actividad antiviral, antifúngica, antimicrobiana y como inhibidor tumoral (Hwu *et al.*, 2008).

En un análisis realizado por De Smet en 1993, se menciona que la cantidad aproximada de NDGA en las hojas maduras de *L. tridentata* en base seca es de 40 mg/g y 100 mg/g en hojas jóvenes, es decir, 4 y 10% respectivamente. Este cálculo se realizó considerando que la cantidad aproximada de resina en hojas es de 10% en hojas maduras y 20% en hojas jóvenes, con una concentración de NDGA en la resina de 40 y 50% respectivamente (De Smet, 1993). Otros estudios reportan concentraciones entre el 10 y 15% del NDGA en las hojas en peso seco (Hwu *et al.*, 2008; Mabry y Bohnsted, 1979; Hyder *et al.*, 2002), lo que constituye entre 40 y 80% de NDGA en todos los fenoles presentes en la resina (Peñuelas *et al.*, 2011; González *et al.*, 1988).

Además del NDGA, se han aislado otros lignanos incluyendo los del tipo furanoide, aril-tetralin y butilo, (Gisvold y Thaker, 1974; Konno *et al.*, 1989; Konno *et al.*, 1990), aunque recientemente hay registro de otros 8 nuevos lignanos (Gnabre *et al.*, 1995).

Además de lignanos, se han encontrado más de 19 flavonoides diferentes, que incluyen flavanonas, flavanoles y flavonoles. Adicional a estos, se han encontrado más de 16 glucósidos de flavonoides y flavonoides sulfatados (Mabry *et al.*, 1977). Una naftoquinona citotóxica llamada larreantina, fue aislada de las raíces de *L.*

*tridentata* (Luo *et al.*, 1988). Otros flavonoles, el kaempferol y la quercetina son de interés biológico y pueden encontrarse en *L. tridentata* en forma de glucósidos o de aglicona (que difieren sólo en un grupo hidroxilo en el anillo B). Además de la capacidad anticarcinógena de estos dos compuestos, también han sido reconocidos como antiinflamatorios y antinociceptivos (De Melo *et al.*, 2009).

De acuerdo con Bohnstedt y Mabry, las ceras constituyen aproximadamente el 0.1% en peso seco de los tallos, y están formadas principalmente por ácidos grasos esterificados con alcoholes primarios. Los aceites volátiles se componen mayormente de vinil cetonas y representan del 0.1 al 0.2% del peso seco de la planta. Adicional a lo anterior, otros 67 compuestos volátiles fueron identificados, los cuales incluyen monoterpenos, monoterpenos oxigenados, fenoles y otros volátiles (Bohnstedt y Mabry, 1979).

### **Actividad farmacológica**

El NDGA es un antioxidante conocido por sus efectos preventivos contra el cáncer, además de mostrar efectos antimutagénicos. Kelly *et al.* (2001) sugieren que este efecto protector al ADN se debe la habilidad del NDGA para donar átomos de hidrógeno fenólico que inactivan a los radicales hidroxilo formados por reacción de Fenton. Consecutivo a lo anterior, el anión resultante (fenolato-NDGA), puede quelar los iones ferrosos y prevenir nuevas oxidaciones de peróxido de hidrógeno inducidas por hierro.



### **Actividad antimicrobiana**

Se ha demostrado la actividad del NDGA contra microorganismos y parásitos, dentro de los cuales se puede enumerar a la *Entamoeba histolytica* en cultivo, contra *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*, y *Streptococcus faecalis* (Encarnación y García, 1991).

En otros estudios conducidos por (Chen *et al.*, 1998; Craigo *et al.*, 2000), se observó que el ácido mono-, di-, tri- y tetra -O-metilnordihidroguayarático inhibe la replicación del virus de inmunodeficiencia humana (VIH), y que el ácido tetra-O-metilnordihidroguayarático inhibe el virus del herpes simple (VHS) y el virus del papiloma humano (VPH) en cultivo.

El efecto hipoglucemiante del NDGA se ha descrito en modelos animales, específicamente en ratas y ratones con diabetes tipo II (Luo *et al.*, 1998; Reed *et al.*, 1999). Se ha descrito que el NDGA reduce los niveles de glucosa sérica, pero sin incrementar los niveles de insulina en suero. Otro efecto de este compuesto es la disminución de los niveles de triglicéridos, ácidos grasos libres y glicerol en el modelo de estreptozotocina de diabetes tipo II en ratas (Reed *et al.*, 1999). En otro estudio se observó la inhibición de la secreción de triglicéridos por el hígado, además de la disminución de triglicéridos séricos (Gowri *et al.*, 1999; Scribner *et al.*, 2000).

### **Farmacocinética y toxicidad del NDGA**

El estudio sobre la farmacocinética del NDGA fue reportado por Lambert *et al.* (2001). Aproximadamente 99.8% del NDGA encontrado en plasma, está ligado a

proteínas. Se observó que el NDGA tiene un perfil farmacocinético de dos compartimentos con una vida media de distribución de 30 minutos y una vida media terminal de 135 min. Mientras que la alta asociación a proteínas puede limitar la biodisponibilidad del NDGA in vivo, su alta vida media podría permitir que se acumulen niveles tóxicos en tejido. El NDGA mostró un valor de depuración renal de casi dos veces mayor al de la creatinina, lo cual indica que puede ser depurado por otro medio distinto al renal (Lambert *et al.*, 2001).

A pesar de haber sido usado por varios años en la industria alimentaria como antioxidante, dejó de usarse debido a varios reportes sobre nefrotoxicidad. Los efectos tóxicos en riñones han sido estudiados en modelos animales, demostrando que 3% de NDGA causaba nefropatía quística en ratas (Evan y Gardner, 1979; Gardner *et al.*, 1987; Goodman *et al.*, 1970; Grice *et al.*, 1968), debida a la destrucción de las células del epitelio tubular y al bloqueo de los túbulos (Lambert *et al.*, 2004).

En estos animales, pudo observarse que el NDGA es oxidado por una catalasa en el íleon y el ciego para después filtrarse en los nódulos linfáticos y ser excretado en orina. Antes de excretarse, el metabolito formado llega al epitelio del túbulo proximal y se acumula en los lisosomas, causando la fusión de los túbulos afectados y la formación de pseudoquistes (Evan y Gardner, 1979; Gardner *et al.*, 1987; Grice *et al.*, 1968; Goodman *et al.*, 1970). En animales tratados con 1g/kg de NDGA se observó daño en células tubulares, dilatación local y focal de los túbulos, necrosis tubular, proliferación focal del epitelio tubular, infiltración focal del intersticio y el

lumen tubular por leucocitos polimorfonucleares, Infocitos, macrófagos y células redondas, así como fibrosis interscticial (Gardner *et al.*, 1986).

EL NDGA actúa de manera sinérgica para inducir enfermedad renal quística con las endotoxinas de *Escherichia.coli* y *Proteus mirabilis*, sin embargo, se ha observado la pobre respuesta para generar estos cambios renales en ratas libres de gérmenes, lo cual puede indicar que los efectos no se deben en su totalidad a la ingesta de NDGA (Gardner *et al.*, 1987).

En cuanto a los casos en humanos, se reportó que una mujer de 56 años desarrolló enfermedad quística renal y adenocarcinoma quístico de riñón a consecuencia del consumo diario de 3-4 tazas de infusión de *L. tridentata*, por tres meses (De Smet, 1993).

Aunque no se ha determinado el compuesto responsable, se ha asociado el consumo de *L. tridentata* con el daño hepático. Sheihk *et al.* (1997) revisaron 18 casos de hepatotoxicidad inducida por productos que la contienen, principalmente tabletas y cápsulas. La concentración de *L. tridentata* encontrada en estos productos va de los 100 a los 480 mg por tableta, y los casos reportados indicaron efectos como ictericia, elevación en los niveles de enzimas hepáticas en suero y en algunos casos cirrosis.

Si bien se han descrito los efectos tóxicos en hígado por consumo de *L. tridentata*, es necesario distinguir si estos efectos son debidos a los compuestos presentes en

la planta o solamente al NDGA, puesto que se ha reportado que este último inhibe la toxicidad de la aflatoxina B1 y el benzo[a] pireno (Byczkowski y Gessner, 1989; Donnelly *et al.*, 1996; Liu y Massey, 1992).

En este sentido y de acuerdo con Agarwal *et al.* (1991) el NDGA inhibe la actividad de la monooxigenasa en el citocromo P450 en ratas, que es responsable de la activación de varios xenobióticos y carcinógenos por lo cual el NDGA podría funcionar como antídoto de la respuesta tóxica relacionada a la exposición de estos agentes tóxicos.

### **Inducción de apoptosis**

El NDGA es un inhibidor de la enzima lipooxigenasa, lo cual tiene efectos en la inducción de apoptosis en algunos tipos celulares (Tang y Honn, 1997; Biswal *et al.*, 2000). Sin embargo, otros mecanismos como el de la disminución del glutatión, reacciones de peroxidación y estrés mitocondrial han sido descritos para explicar este efecto del NDGA. (La *et al.*, 2003; Tang y Honn, 1997; Biswal *et al.*, 2000). En un estudio realizado con células FL5.12, conducido por Deshpande y Kehrer (2006), se concluyó que el NDGA induce la muerte celular apoptótica por dos vías, las cuales se originan con estrés redox/ROS, que luego conduce a los efectos duales de la activación de la quinasa p38 y la señalización dirigida por las mitocondrias. Se observó también que la capacidad del NDGA de inducir apoptosis mediante varias vías de señalización en la célula, lo hace una herramienta útil en la regulación de

apoptosis en condiciones particulares en las que se ven comprometidas varias vías de señalización, como ocurre en el cáncer.

## REFERENCIAS

- Agarwal, R., Wang, Z. Y., Bik, D. P., & Mukhtar, H. (1991). Nordihydroguaiaretic acid, an inhibitor of lipoxygenase, also inhibits cytochrome P450-mediated monooxygenase activity in rat epidermal and hepatic microsomes. *Drug Metab Dispos*, 19(3), 620-624.
- Arteaga, S., Andrade-Cetto, A., & Cárdenas, R. (2005). *Larrea tridentata* (Creosote bush), an abundant plant of Mexican and US-American deserts and its metabolite nordihydroguaiaretic acid. *J Ethnopharmacol*, 98(3), 231–239.
- Barceloux, D. G. (2008) Chapter 57 Chaparral: [*Larrea tridentata* (Sesse & Moc. ex DC) Vail]. En *Medical Toxicology of Natural Substances. Part 3 Medicinal herbs and essential oils* (pp. 429-433). Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, Inc.
- Biswal, S.S., Datta, K., Shaw, S.D., Feng, X., Robertson, J.D., & Kehrer, J.P. (2000). Glutathione oxidation and mitochondrial depolarization as mechanisms of nordihydroguaiaretic acid-induced apoptosis in lipoxygenase deficient FL5.12 cells. *Toxicol Sci*, 53(1), 77–83.
- Bohnstedt, C., & Mabry, T. (1979). The volatile constituents of the genus *Larrea* (Zygophyllaceae). *Rev Latinamericana Quim*, 10, 128–131.

- Brent, J. (1999). Three new herbal hepatotoxic syndromes. *J Toxicol-Clin Toxic*, 37(6), 715–719.
- Byczkowski, J. Z., & Gessner, T. (1989). Effects of inhibition of nadph: cytochrome p-450 reductase on benzo(a)pyrene metabolism in mouse liver microsomes. *Int J Biochem*, 21(5), 525–529.
- Cavanilles, A. (1800). *Larrea*. *Revista Anales de historia natural*, 2(4), 119-123.
- Chen, H., Teng, L, Li, J. N., Park, R., Mold, D. E., Gnabre, J., Hwu, J. R., Tseng, W. N., & Huang, R. C. (1998). Antiviral activities of methylated nordihydroguaiaretic acids. 2. Targeting Herpes simplex virus replication by the mutation insensitive transcription inhibitor tetra-O-methyl-NDGA. *J Med Chem*, 41, 3001–3007.
- Coville F. V., Bebb, M. S., Eaton, D. C., & Clark, J. A. (1893). *Contributions from the United States National Herbarium Vol IV*. Washington: Government Printing Office.
- Craig, J., Callahan, M., Huang, R. C., & DeLucia, A. L. (2000). Inhibition of human papillomavirus type 16 gene expression by nordihydroguaiaretic acid plant lignan derivatives. *Antiviral Res*, 47(1), 19–28.
- De Melo, G. O., Malvar, D. C., Vanderlinde, F. A., Rocha, F. F., Pires, P. A., Costa, E. A., Matos, L. G., Kaiser, C. R., & Costa, S. S. (2009). Antinociceptive and anti-inflammatory kaempferol glycosides from *Sedum dendroideum*. *J Ethnopharmacol*, 124(2), 228–232.

- De Smet, P.A.G.M. (1993). *Larrea tridentata*. En P.A.G.M. De Smet, K. Keller, R. Hiinsel, R.F. Chandler (Eds). *Adverse effects of herbal drugs Vol. 2* (pp. 231-240). Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag.
- Deshpande, V. S., & Kehrer, J. P. (2006). Oxidative stress-driven mechanisms of nordihydroguaiaretic acid-induced apoptosis in FL5.12 cells. *Toxicol Appl Pharm*, 214(3), 230–236.
- Donnelly, P. J., Stewart, R. K., Ali, S. L., Conlan, A. A., Reid, K. R., Petsikas, D., & Massey, T. E. (1996). Biotransformation of aflatoxin B1 in human lung. *Carcinogenesis*, 17(11), 2487–2494.
- Duisberg, P. C., Shires, L. B., & Botkin, C. W. (1949). Determination of nordihydroguaiaretic acid in the leaf of *Larrea divaricata* (creosote bush). *Anal Chem*, 21, 1393-1396.
- Encarnación, R. D., & García, S. K. (1991). Antimicrobial screening of medicinal plants from Baja California Sur, Mexico. *J Ethnopharmacol*, 31(2), 181–192.
- Evan, A. P., & Gardner, K. D., (1979). Nephron obstruction in nordihydroguaiaretic acid-induced renal cystic disease. *Kidney Int*, 15(1), 7–19.
- Gardner, K. D., Evan, A. P., & Reed, W. P. (1986). Accelerated renal cyst development in deconditioned germ-free rats. *Kidney Int*, 29(6), 1116-1123.
- Gardner, K. D., Reed, W., Evan, A. P., Hylarides, M., & Leone, A. (1987). Endotoxin provocation of experimental renal cystic disease. *Kidney Int*, 32(3), 329–334.

- Gisvold, O., & Thaker, E. (1974) Lignans from *Larrea divaricata*. *J Pharm Sci*, 63, 1905–1907.
- Gnabre, J., Huang, R. C. C., Bates, R. B., Burns, J. J., Caldera, S., Malcolmson, M. E., & McClure, K. J. (1995). Characterization of anti-HIV lignans from *Larrea tridentata*. *Tetrahedron*, 51, 12203–12210.
- González, F. (2012). Evolución de la vegetación desértica de América del Norte. En *Las Zonas áridas y semiáridas de México y su vegetación* (pp. 27-35). México, D.F.: Instituto Nacional de Ecología. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales.
- (2012a). Topografía, suelos y vegetación. En *Las Zonas áridas y semiáridas de México y su vegetación* (pp. 37-51). México, D.F.: Instituto Nacional de Ecología. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales.
- Gonzalez-Coloma, A., Wisdom, C., & Rundel, P. (1988). Ozone impact on the antioxidant nordihydroguaiaretic acid content in the external leaf resin of *Larrea tridentata*. *Biochem Syst Ecol*, 16, 59–64.
- Goodman, T., Grice, H., Becking, G., & Salem, F. (1970). A cystic nephropathy induced by nordihydroguaiaretic acid in the rat. *Lab Investigat*, 23(1), 93–107.
- Gowri, M., Reaven, G., & Azhar, S. (1999) Masoprocol lowers blood pressure in rats with fructose-induced hypertension. *Am J Hypertension*, 12, 744–746.
- Grice, H. C., Becking, G., & Goodman, T. (1968). Toxic properties of nordihydroguaiaretic acid. *Food Cosmet. Toxicol*, 6(2), 155–161.



- Hwu, J. R., Hsu, M. H., & Huang, R. C. (2008). New nordihydroguaiaretic acid derivatives as anti-HIV agents. *Bioorg Med Chem Lett*, 18, 1884–1888.
- Hyder, P., Fredrickson, E., Estell, R., Tellez, M., & Gibbens, R. (2002). Distribution and concentration of total phenolics condensed tannins, and nordihydroguaiaretic acid (NDGA) in creosote bush (*Larrea tridentata*). *Biochem Syst Ecol*, 30(10), 905-912.
- Irigoyen-Rascón, F., & Paredes A. 2015. *Tarahumara medicine: Ethnobotany and healing among The Rarámuri of México*. Norman, OK: University of Oklahoma Press.
- Kelly, M., Xu, J., Alexander, K., & Loo, G. (2001). Disparate effects of similar phenolic phytochemicals as inhibitors of oxidative damage to cellular DNA. *Mutat Res-DNA Repair*, 485(4): 309–318.
- Kohl, K. D., Weiss, R. B., Cox, J., Dale, C., & Dearing, M. D. (2014). Gut microbes of mammalian herbivores facilitate intake of plant toxins. *Ecol Lett*, 17(10), 1238–1246.
- Konno, C., Xue, H-Z., Lu, Z-Z., Ma, B., Erdelmeier, C., Che, C-T., Cordell, G., Soejarto, D., Waller, D., & Fong, H. (1989). 1-Aryl tetralin lignans from *Larrea tridentata*. *J Nat Prod*, 52, 1113–1117.
- Konno, C., Lu, Z-Z., Xue, H-Z., Erdelmeier, C., Meksuriyen, D., Che, C-T., Cordell, G., Soejarto, D., Waller, D., & Fong, H. (1990) Furanoid lignans from *Larrea tridentata*. *J Nat Prod*, 53, 396–406.

- La, E., Kern, J. C., Atarod, E. B., & Kehrer, J. P. (2003). Fatty acid release and oxidation are factors in lipoxygenase inhibitor-induced apoptosis. *Toxicol Lett*, 138(3), 193–203.
- Lambert, J. D., Dorr, R. T., & Timmermann, B. N. (2004). Nordihydroguaiaretic acid: A review of its numerous and varied biological activities\*. *Pharm Biol*, 42(2), 149–158.
- Lambert, J. D., Meyers, R. O., Timmermann, B. N., & Dorr, R. T. (2001). Pharmacokinetic analysis by high-performance liquid chromatography of intravenous nordihydroguaiaretic. *J Chromatogr B*, 754(1), 85-90.
- (2001a). tetra-O-Methylnordihydroguaiaretic acid inhibits melanoma in vivo. *Cancer Lett*, 171(1), 47–56.
- Leonforte, J. F. (1986). Contact dermatitis from *Larrea* (creosote bush). *J Am Acad Dermatol*, 14(2), 202–207.
- Liu, L., & Massey, T. E. (1992). Bioactivation of aflatoxin B1 by lipoxygenases, prostaglandin H synthase and cytochrome P450 monooxygenase in guinea-pig tissues. *Carcinogenesis*, 13(4) 533–539.
- López, S. (2017). Extracción, cuantificación y valoración biológica del Extracto de hojas de *Larrea tridentata* (sessé & moc. Ex dc.) Coville para su uso como agente biocida. Tesis de doctorado. Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

- Luo, J., Chuang, T., Cheung, J., Quan, J., Tsai, J., Sullivan, C., Hector, R., Reed, M., Meszaros, K., King, S., Carlson, T., & Reaven, G. (1998). Masoprocol (nordihydroguaiaretic acid): A new antihyperglycemic agent isolated from the creosote bush (*Larrea tridentata*). *European J Pharmacol*, 346, 77–79.
- Luo, Z., Meksuriyen, D., Erdelmeier, C., Fong, H., & Cordell, G. (1988) Larreantin, a novel, cytotoxic naphthoquinone from *Larrea tridentata*. *J Org Chem*, 53, 2183–2185.
- Mabry, T. J., Difeo jr, D. R., Sakakibara, M., Bohnsted jr, C., & Seigler, D. (1977) The natural products chemistry of *Larrea*. En T. J. Mabry, J. H. Hunziker & D. R. DiFeo jr (Eds). *Creosote Bush, Biology and Chemistry of Larrea in New World Deserts* (pp. 115–134). Stroudsburg, PA: Dowden, Hutchinson, and Ross, Inc.
- Mabry, T. J., & Bohnstedt, C. (1979). *Larrea*: a chemical resource. En E. Campos-López, T. J. Mabry & S. Fernández-Tavizon (Eds). *Larrea: Serie el Desierto Vol. 2* (pp. 217-236). Coahuila, México: CIQA.
- Maidana G. E. (2017). Los desiertos: El planeta tierra como sistema. *Contribuciones científicas GAEA*. 29, 137-148.
- Martins, S., Aguilar, C., Teixeira, J., & Mussatto, S. (2012). Bioactive compounds (phytoestrogens) recovery from *Larrea tridentata* leaves by solvents extraction. *Sep Purif Technol*, 88, 163–167.

- Mellado, M. (2005). Gender and tooth wear effects on diets of grazing goats. *Small Ruminant Res*, 57,105-114.
- Mellado, M., Foote, R. H., Rodríguez, A., & Zárate, P. (1991). Botanical composition and nutrient content of diets selected by goats grazing on desert grassland in northern Mexico. *Small Ruminant Res*, 6,141-150.
- Merriam, C. H. (1893). Report of desert trees and shrubs. En *North American Fauna* No. 7 (pp. 285-343). Washington: Government Printing Office.
- Oliveto, E. P. (1972). Nordihydroguaiaretic Acid. A naturally occurring antioxidant. *Chemical Industry*, 17, 677-679.
- Peñuelas, O., Arellano, M., Martínez, J., Gutiérrez, M., Castro, L., & Mungarro, C. (2001). *Larrea tridentata* potencial solución para la desinfección del suelo. *Ide@s CONCYTEG*, 6 (71), 605-616.
- Reed, M., Meszaros, K., Entes, L., Claypool, M., Pinkett, J., Brignetti, D., Luo, J., Khandwala, A., & Reaven, G. (1999) Effects of masoprocol on carbohydrate and lipid metabolism in a rat model of type II diabetes. *Diabetologia*, 42, 102–106.
- Rossi, C. A., De León, M., González, G., Dib, P. C., & Pereyra, A. M. (2008). Composición química, contenido de polifenoles totales y valor nutritivo en especies de ramoneo del sistema silvopastoril del Chaco árido argentino. *Zootecnia Tropical*, 26(2), 105-115.

- Rzedowski, J. (2006). Capítulo 15 Matorral Xerófito. En *Vegetación de México* (pp. 247-273). México: 1ra Edición digital, Comisión Nacional para el conocimiento y uso de la Biodiversidad.
- Scribner K, Gadbois T, Gowri M, Azhar S, Reaven GM (2000). Masoprocol decreases serum triglyceride concentrations in rats with fructose-induced hypertriglyceridemia. *Metabolism*, 49, 1106–1110.
- Sheikh, N. M., Philen, R. M., & Love, L. A. (1997). Chaparral-associated hepatotoxicity. *Arch Intern Med*, 157(8), 913-919.
- Smart, C. R., Hogle, H. H., Robins, R. K., Broom, A. D., & Bartholomew, D. (1969). An interesting observation on nordihydroguaiaretic acid (NSC-4291; NDGA) and a patient with malignant melanoma. A preliminary report. *Cancer Chemother Rep*, 53,147-151.
- Smith, A. Y., Feddersen, R. M., Gardner, K. D., & Davis, C. J. (1994). Cystic renal cell carcinoma and acquired renal cystic disease associated with consumption of chaparral tea: a case report. *J Urology*, 152(6), 2089–2091.
- Sorensen, J. S., Heward, E., & Dearing, M. D. (2005). Plant secondary metabolites alter the feeding patterns of a mammalian herbivore (*Neotoma lepida*). *Oecologia*, 146(3), 415-422.
- Tang, D. G., & Honn, K.V. (1997). Apoptosis of W256 carcinosarcoma cells of the monocytoid origin induced by NDGA involves lipid peroxidation and depletion

of GSH: role of 12-lipoxygenase in regulating tumor cell survival. *J Cell Physiol*, 172(2), 155–170.

Torregrossa, A.-M., Azzara, A. V., & Dearing, M. D. (2011). Testing the diet-breadth trade-off hypothesis: differential regulation of novel plant secondary compounds by a specialist and a generalist herbivore. *Oecologia*, 168(3), 711–718.

Valentine, J. L., McKenzie, L., & Kovarik, F. (1984). Gas chromatographic determination of nordihydroguaiaretic acid in *Larrea divaricata*. *Anal Lett*, 17(14), 1617–1626.

Vázquez-Yanes, C., Batis, A. I., Alcocer, M. I., Gual, M., & Sánchez, C. (1999). Árboles mexicanos potencialmente valiosos para la restauración ecológica y la reforestación. *Reporte técnico del proyecto J084*. México: CONABIO-Instituto de Ecología, UNAM.

Waller, C. W., & Gisvold, O. (1945). A phytochemical Investigation of *Larrea Divaricata* Cav.\*. *J Am Pharm Assoc Sci*, 34(3), 78–81.

Wellendorf, M. (1964). Nordihydroguajaretsyre (N.D.G.A.) II. Stamplantens indholdsstoffer. *Dan Tidsskr Farm*, 38, 104-108.

# **CAPÍTULO II**

## **CAPÍTULO II. *Larrea tridentata* COMO FORRAJE PARA CORDEROS DE ENGORDA**

### **RESUMEN**

El objetivo del estudio fue identificar el efecto de dietas integrales con la adición de biomasa del arbusto de gobernadora (*Larrea tridentata*) como forraje para corderos sobre el consumo de alimento, ganancia de peso, pH y protozoarios ruminales y concentración de ooquistes de *Eimeria* spp. en heces. La planta completa de gobernadora fue incorporada como forraje en 0 (control), 5 y 10% (base seca) en dietas integrales en sustitución de paja de sorgo. Las dietas fueron asignadas aleatoriamente a 21 corderos Rambouillet ( $22.1 \pm 1.7$  kg de peso vivo). El ensayo tuvo una duración de 60 días. Los corderos alimentados con 5 y 10% de gobernadora tuvieron menor ( $p < 0.05$ ) consumo que el testigo. Para las variables ganancia de peso, peso final, eficiencia alimentaria, pH ruminal, rendimiento de canales no hubo diferencias ( $p > 0.05$ ). Solo el largo de la canal y largo de la pierna se encontraron diferencias ( $p < 0.05$ ) con mayores valores para el tratamiento control. El recuento de protozoarios ruminales y de ooquistes en heces fueron disminuidos ( $p < 0.05$ ) conforme se incrementó el porcentaje de gobernadora en la dieta. Por lo tanto, los resultados indican que es factible utilizar hasta el 10% de biomasa de gobernadora en las dietas para corderos. Con base en el contenido del presente capítulo, se redactó el artículo "BIOMASA DE GOBERNADORA (*Larrea tridentata*) COMO FORRAJE PARA BORREGOS" que fue aceptado para su publicación en la Revista Chapingo Serie Zonas Áridas (Anexo 1).



**PALABRAS CLAVE:** CONSUMO DE ALIMENTO, COCCIDIA, *Eimeria*, PROTOZOARIOS.

## INTRODUCCIÓN

En México, 128 millones de hectáreas corresponden a zonas áridas y semiáridas; en ellas habita la mitad de la población humana (Luiselli Fernandez, 2017). La importancia ecológica y productiva de estas áreas radica en que son sólo aptas para la producción extensiva de ovejas y cabras (Villalobos *et al.*, 2017). En este sistema, la alimentación del ganado representa más del 60% del costo de producción. Sin embargo, ese porcentaje aumenta cuando el estiaje se acentúa, porque generalmente se recurre a la compra de suplementos alimentarios caros (Gómez y González *et al.*, 2009). Por lo tanto, en condiciones de sequía, la búsqueda de alimentos no convencionales de producción regional adquiere importancia.

El arbusto de gobernadora (*Larrea tridentata*) se distribuye en casi 19 millones de hectáreas de las zonas áridas del centro y norte de México y del sur de Estados Unidos de América. Los matorrales de gobernadora son arbustos xerófilos perennifolios de múltiples ramas con hojas cubiertas por una sustancia resinosa con olor penetrante y sabor amargo. Los arbustos permanecen casi siempre verdes, aunque durante sequías severas se tornan café amarillento. La gobernadora es considerada una planta indicadora de disturbio que es foco de extensos esfuerzos de control (Arteaga *et al.*, 2005).

La gobernadora es una planta con importancia histórica en la medicina tradicional. Sus hojas y tallos tienen 4% del lignano denominado ácido nordihydroguaiarético

(NDGA) (Hyder *et al.*, 2002). También, en extractos de gobernadora se han identificado otros compuestos como fenoles, flavonoides, saponinas, sapogeninas, taninos, esteroides y terpenos (Jitsuno y Mimaki, 2010; Gnabre *et al.*, 2015). Estos compuestos bioactivos de gobernadora tienen efecto antioxidante (Skouta *et al.*, 2018), antiinflamatorio y anticonceptivo (De Melo *et al.*, 2009), antifúngico (Aguirre-Joya *et al.*, 2018), antimicrobiano (Hwu *et al.*, 2008), antihelmíntico (García *et al.*, 2018) y anti protozoario (Schmidt *et al.*, 2012; Bashyal *et al.*, 2017).

A pesar de estos atributos fitoquímicos y de que el follaje es consumido de manera voluntaria por cabras (Mellado, 2005), la gobernadora ha sido poco explorada como alimento no convencional y funcional para el ganado. La información escasa sobre su uso en rumiantes fue generada por Duisberg (1952) y Holechek *et al.* (1990), quienes indicaron que la harina de hojas de gobernadora tiene un valor nutricional similar al de la alfalfa, aunque con menor palatabilidad. Además del valor nutricional, la gobernadora puede tener efecto coccidiostato en ovinos; sin embargo, ese conocimiento no ha sido generado. Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue identificar el efecto dietas integrales con la adición de biomasa del arbusto de gobernadora (*Larrea tridentata*) como forraje para corderos sobre el consumo de alimento, ganancia de peso, pH y protozoarios ruminales y concentración de ooquistes de *Eimeria* spp. en heces.

## REVISIÓN DE LITERATURA

### La Ovinocultura en México

Los ovinos son pequeños rumiantes que se distinguen de los demás por la producción de lana. Poco se conoce acerca del origen de la oveja doméstica, pero se cree que proviene del grupo de los antílopes de Europa y Asia. Las primeras ovejas llegaron a América alrededor del año 1500 y en la actualidad, son utilizadas principalmente para la producción de pieles, lana y carne, de la cual son buenas productoras en condiciones de alimentación intensiva (Koeslag, 2010).

En el 2018, en México se sacrificaron 3, 082,460 cabezas de ganado ovino, las cuales produjeron 62,940 toneladas de carne en canal, con un valor de 4,582 millones de pesos (SIAP, 2018). A pesar de estos datos, la tendencia en los últimos años muestra que la producción nacional no da abasto al consumo nacional, siendo necesaria la importación de carne proveniente principalmente de países como Australia, Nueva Zelanda y Estados Unidos (Partida, 2016).

En México, los ovinos de la raza Rambouillet son de los más utilizados en los diferentes sistemas de producción (Partida, 2016). En un estudio realizado por Partida y colaboradores (2013) se observó que en una muestra de 1000 canales ovinas, el 25.5 % del genotipo proviene de razas puras y de estas, la raza Rambouillet representa el 23.1 % entre las más utilizadas para la producción de carne.

## **Alimentación del borrego**

La alimentación de corderos en engorda intensiva se basan principalmente en dietas contenidos altos de grano y porcentajes bajos de forraje (entre 5 y 10%) en base seca, ofrecidas a libre acceso (Stock, *et al.*, 1990; Cuesta, *et al.*, 2003; Bodas, 2004). La cantidad de alimento consumido libremente dependerá de la calidad de los alimentos (Cañeque, *et al.*, 1987; Haddad y Husein, 2001). Cuando el porcentaje de forraje en la dieta aumenta, el porcentaje de fibra también se incrementa. De manera general, el consumo de alimento disminuye cuando la cantidad de fibra en la dieta aumenta (Rodríguez, 2005). A pesar de estas afirmaciones, en un estudio realizado por Pérez-Lanzac y colaboradores (1988), se observó que la cantidad de alimento consumida por corderos de engorda aumentó con el incremento de fibra en la dieta. Este efecto puede deberse a que los animales compensan el decremento de contenido energético, aumentando la cantidad de alimento (Rodríguez, 2005).

Aunado a lo anterior, el sexo de los animales puede inferir en la cantidad de alimento que consumen. En estudios realizados por Cañeque y colaboradores (1987) y Phillips y colaboradores en (2002) se observó que los corderos machos recién destetados en engorda intensiva consumen más alimento que las hembras.

## **Costos de alimentación**

De manera general, el costo de producción por concepto de alimentación varía si la producción es en pastoreo o estabulado. El porcentaje mínimo siempre superior a 60% corresponde a los animales en pastoreo (intensivo, semiintensivo o extensivo).

Los animales estabulados, el costo por concepto de producción es cercano al 70 % (Shimada, 2003). A pesar de que en comparación con los animales en pastoreo, los costos de alimentación en animales estabulados son mayores, el sistema de producción estabulado es el más intensivo y el más eficiente en costo / beneficio (Partida, 2016).

### **Alimentos alternativos en la alimentación del borrego**

Los residuos vegetales de las cosechas de grano o semillas, considerados como subproductos agrícolas o esquilmos, es materia vegetal utilizada en la alimentación tradicional de los rumiantes de producción. Su importancia radica en el aprovechamiento principalmente cuando hay poca disponibilidad de forraje verde o en época de sequía (Borja, *et al.*, 2016). La disponibilidad del forraje cultivado para consumo animal y su valor nutricional dependen de variables climatológicas y biológicas como la precipitación anual, temperatura, fertilidad del suelo, especie de la planta, maduración del forraje, entre otros (Rinehart, 2008).

Además de los alimentos tradicionales y/o comerciales como concentrados, pastos, heno y esquilmos, las hojas y tallos de los árboles y los arbustos disponibles han sido utilizados como alimento animal desde tiempos remotos, y parece ser el forraje preferido por las cabras y algunas razas ovinas, particularmente en zonas áridas (Caceres y Gonzalez, 2002). La utilización y relevancia de estas plantas como forraje no convencional consiste en las diferentes características agronómicas deseables en la alimentación animal, como el valor nutritivo, la competitividad contra

hierbas indeseables, distribución, adaptación al clima y condiciones edafológicas, resistencia a plagas y enfermedades de las plantas, entre otras (Ramírez, 2009).

En tiempos recientes estas plantas han sido introducidas en sistemas de cultivo y pastoreo para suministrar alimento con alta concentración en proteína suplementaria para dietas de baja calidad (Caceres y Gonzalez, 2002). Arbustos o árboles forrajeros como el encino (*Quercus*, spp.), la acacia (*Acacia*, spp.), el mezquite (*Prosopis*, spp.), guaje (*Leucaena leucocephala*), chijol (*Piscidia piscipula*) y tejocote (*Crataegus mexicana*) han sido clasificados como alimentos no convencionales y son utilizados en la alimentación de los ovinos (Zaragoza y Castrellón, 1999; Galaviz, *et al.*, 2011).

En México se han realizado diversos ensayos para determinar la viabilidad de la utilización de árboles y arbustos como alternativas en la alimentación del ganado, destacando sus ventajas como recurso vegetal no convencional en el aprovechamiento en zonas áridas.

Méndez (2006) observó que especies arbóreas y arbustivas como *Leucaena glauca*, *Pithecellobium dulce* y *Atriplex canescens* poseen un alto valor nutrimental para el ganado, destacando que el follaje de estas especies puede recolectarse y almacenarse, u ofrecerse directamente como fuente de alimento para rumiantes, principalmente en la época de escasez de otros forrajes.

En otras investigaciones, se identificó que la vaina del mezquite (*Prosopis laevigata*) es un ingrediente no convencional potencialmente valioso en zonas del país con una baja precipitación pluvial y puede ser considerado como una alternativa económica para la alimentación del ganado debido a su valor nutricional, comparable con subproductos agroindustriales tradicionalmente usados como complemento forrajero (Ruiz, 2011; Peña, 2015).

### **Alimentos funcionales**

El término “Alimento Funcional” fue propuesto por primera vez en Japón en la década de los 80’s y que se refiere a aquellos alimentos procesados los cuales contienen ingredientes (ingredientes funcionales) que desempeñan una función específica en las funciones fisiológicas del organismo humano, más allá de su contenido nutrimental (Alvídrez-Morales, *et al.*, 2002). Entre los principales ingredientes de los alimentos funcionales están los polifenoles, carotenoides, hesperidina, ácidos grasos insaturados, licopeno, y fitosteroles. Los alimentos funcionales más utilizados en la nutrición animal son los antioxidantes. (Kasapidou, *et al.*, 2015).

### **Coccidiosis ovina**

Las enfermedades parasitarias afectan la productividad de los ovinos en pastoreo y son consideradas como uno de los principales problemas que enfrenta esta especie en todo el mundo. Estas enfermedades afectan con mayor frecuencia a animales

jóvenes en desarrollo, provocando baja ganancia de peso y retraso en el crecimiento (González, *et al.*, 2011).

Entre las principales enfermedades parasitarias que afectan a los rumiantes, se encuentra la coccidiosis ovina es una enfermedad intestinal altamente contagiosa, provocada por la multiplicación de organismos protozoarios unicelulares pertenecientes a la clase *Sporozoea*, orden *Eucoccidiida*, familia *Eimeriidae* y género *Eimeria*, que se desarrollan dentro de las células intestinales de sus huéspedes. Estos protozoarios pueden influir negativamente en la salud y en el rendimiento productivo de los borregos, con una mortalidad de hasta el 20%. Esta enfermedad se caracteriza por una alta producción de citocinas proinflamatorias y estrés oxidativo, los cuales pueden dañar el tejido intestinal (González, *et al.*, 2011; Rossanigo, 2007; Cervantes, 2016).

Las especies de *Eimeria* se desarrollan en un ciclo de vida directo de tres etapas. Dos etapas se desarrollan dentro de las células intestinales de un huésped y la tercera etapa ocurre fuera del cuerpo del huésped, en un ooquiste que protege los esporozoitos infecciosos enquistados del medio ambiente (Jolley y Bardsley, 2006).

Los fármacos que se usan con mayor frecuencia para su tratamiento son: sulfonamidas, coccidiostatos y ionóforos, los cuales actúan en el último estadio del ciclo de vida; las quinolonas interrumpen el desarrollo de la coccidia desde el comienzo del ciclo de vida. El principal problema al cual se enfrentan los



productores, es la resistencia que se tiene con ciertos fármacos, la cual se ha descrito principalmente en aves de producción (Cervantes, 2016)

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Recolección de la planta

La recolección de *L. tridentata* se llevó a cabo en mayo del 2016 en la comunidad de El Huizache, municipio de Soledad de Graciano Sánchez, San Luis Potosí, México. Los sitios de colecta están ubicados cerca de las coordenadas a 22°14'13" N y 100°51'36" O a 1834 msnm, con una temperatura promedio anual de 21° C y precipitación de 950 mm (*Ilustración 1*). Se cortaron dos tercios superiores de la planta (tallo y hoja) y se trasladaron a la unidad ovina de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Ahí, la biomasa de los arbustos fue secada a temperatura ambiente a la sombra durante dos semanas (*Ilustración 2*).



Ilustración 1. Ejemplar de gobernadora (*Larrea tridentata*) en la localidad de El Huizache, municipio de Soledad de Graciano Sánchez, S.L.P.



Ilustración 2. Secado bajo la sombra de gobernadora

Posteriormente las plantas fueron molidas en un molino de martillos (Mod. 301085, Molinos Azteca) (*Ilustración 3*) y cribadas en un tamiz de  $\frac{1}{4}$  de pulgada (*Ilustración 4*).



Ilustración 3. Molino de martillos



Ilustración 4. Criba de  $\frac{1}{4}$  para molino de martillos

### **Formulación de dietas**

Las dietas integrales experimentales se formularon para ovinos de acuerdo con los requerimientos establecidos por el NRC (1985) para borregos de 20 kg de peso vivo y una ganancia diaria de peso (GDP) promedio de 250 g. Los ingredientes para la

elaboración de las dietas fueron grano quebrado de maíz amarillo, pasta de soya, melaza de caña, paja de sorgo y minerales y vitaminas (Nu-3®). La planta molida se adicionó (en base seca) en la dieta a razón de 0, 5 y 10%, en sustitución del contenido de forraje (paja de sorgo) (*Tabla 1*). Los ingredientes fueron comercializados con los productores locales, se pesaron y mezclaron (mezcladora horizontal de paletas 2000, Azteca, Guadalajara, Jal., México) (*Ilustración 5*).



Ilustración 5. Mezcladora horizontal de paletas

Tabla 1. Ingredientes de las dietas experimentales para corderos de finalización

| Ingrediente, % MS      | <i>L.tridentata</i> , % (base seca) |    |    |
|------------------------|-------------------------------------|----|----|
|                        | 0                                   | 5  | 10 |
| Maíz amarillo quebrado | 60                                  | 60 | 60 |
| Pasta de soya          | 18                                  | 18 | 18 |
| Melaza                 | 10                                  | 10 | 10 |
| Paja de sorgo          | 10                                  | 5  | 0  |
| Minerales y vitaminas  | 2                                   | 2  | 2  |
| Gobernadora            | 0                                   | 5  | 10 |

Los valores de porcentaje de materia seca (MS), proteína cruda y cenizas de las dietas experimentales fueron estimados de acuerdo con el AOAC (2006). La fibra detergente neutro fue determinada con el método descrito por Mertens (2002).

### **Diseño experimental, animales e instalaciones**

El estudio experimental se realizó en la unidad ovina de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, entre los meses de junio y agosto del 2016. Los corderos para el ensayo de crecimiento fueron 21 machos de la raza Rambouillet, enteros y destetados, con una edad promedio de tres meses y  $22.1 \pm 1.7$  kg de peso vivo. Previo al estudio, los corderos fueron vacunados (Bacterina Biobac<sup>®</sup> 11 vías, Bio Zoo) y desparasitados con ivermectina (Baymec<sup>®</sup> Prolong, Bayer) y fueron adaptados al cambio de dieta durante 21 días en jaulas metabólicas de 1.20 X 0.80 m provistas de sombra, bebederos y comederos a libre acceso (*Ilustración 6*). Durante el periodo de adaptación, se les

alimentó con alfalfa y su dieta fue cambiando gradualmente a dietas con la misma cantidad de grano que las dietas experimentales. Después del periodo de adaptación, los corderos fueron asignados de manera aleatoria a una dieta control y a dos dietas experimentales de finalización que contenían respectivamente 0 (CON, n=7), 5 (LT50, n=7) y 10% (LT100, n=7) de *Larrea tridentata* en base seca. Las dietas y el agua fresca fueron ofrecidas diariamente a libre acceso.



Ilustración 6. Jaulas metabólicas para ovinos

### **Ensayo de crecimiento**

Los animales fueron alimentados a las 8 y 16 horas. En las mañanas se pesaron los rechazos de alimento del día anterior para determinar el alimento consumido y

ajustar la cantidad de alimento a ofrecer, considerando un aumento diario del 10%. El consumo de alimento (alimento ofrecido – alimento rechazado) fue cuantificado diariamente y promediado entre los días del ensayo (*Ilustración 7*).



Ilustración 7. Pesaje del alimento rechazado y cálculo de raciones diarias

El ensayo de crecimiento fue por 60 días. Los corderos fueron pesados cada 15 días con una báscula de piso, realizando un total de 5 pesajes durante el experimento. Con estos registros se pudo conocer la ganancia total de peso como resultado del peso final menos el peso inicial, y la ganancia diaria de peso al dividir la ganancia total de peso entre los días que duró el experimento. La conversión alimentaria fue calculada dividiendo el consumo diario de alimento y la ganancia diaria de peso, mientras que la eficiencia alimentaria fue estimada dividiendo la ganancia diaria de peso entre el consumo de alimento.

### **Cuantificación de protozoarios en líquido ruminal**

Al final del experimento, después del registro del último peso de cada borrego y a las 3 h posteriores a la alimentación diaria, una muestra (50 mL) de fluido ruminal fue obtenida mediante sonda esofágica. Las muestras fueron usadas para medir el pH con un potenciómetro (Orion Start A221, Thermo Scientific, Waltham, Massachusetts, Estados Unidos de América). Las muestras de fluido ruminal fueron trasladadas inmediatamente al laboratorio y conservadas a 38°C hasta la cuantificación de protozoarios. Los protozoos fueron determinados por medio de recuento óptico (x100, Optika B100, Italia) siguiendo el método de Dehority (1984). La concentración de protozoos fue expresada en base logarítmica (log/ml).

### **Cuantificación de *Eimeria* spp. en heces.**

Al final del estudio, una muestra de heces fue obtenida directamente del recto de cada borrego. Las muestras de heces fueron mantenidas en refrigeración (4°C) para el recuento de ooquistes. La cuantificación de ooquistes de *Eimeria* spp. fue realizado con la técnica de McMaster, de acuerdo con el protocolo de Foreyt (2001), con un microscopio óptico a objetivo de 10x (Optika B100, Italia). El recuento de ooquistes fue expresado en unidades por gramo de heces.

### **Sacrificio**

Al concluir el periodo del ensayo experimental se mantuvo a los corderos en ayuno de sólidos y líquidos durante un periodo aproximado de 12 horas. Una vez que se registró el peso (peso vivo al sacrificio), los corderos fueron sacrificados conforme



a la Norma Oficial Mexicana NOM-033-SAG/ZOO-2014. Después del sacrificio, se drenó la sangre y se retiró la extremidad cefálica en la unión atlanto-occipital, las extremidades de los miembros entre los carpos y metacarpos/tarsos y metatarsos, la piel y vísceras, reteniendo únicamente los riñones y los testículos (Ilustración 8). Posteriormente se registró el peso de la canal caliente. Las medidas de las canales se realizaron según el método descrito por Colomer-Rocher (1984) de la siguiente manera: El largo de la canal se midió desde el borde de la primera vértebra cervical hasta la articulación sacrococcígea. El largo de la pierna se midió desde la epífisis proximal del fémur hasta el borde exterior de la articulación tarso-metatarsiana. El perímetro de la grupa es el perímetro de esta región tomando como referencia los trocánteres mayores de ambos fémures y el ancho de la grupa es la anchura máxima entre estas dos referencias. El perímetro del tórax se midió tomando como referencia la apófisis xifoides. El ancho del tórax es la anchura máxima del tórax a nivel de las costillas y la profundidad del tórax es la distancia máxima entre el esternón y la apófisis de la sexta vértebra torácica.

Una vez tomadas las medidas, se procedió a mantener las canales en refrigeración durante 24 horas a 4°C. Posteriormente se registró el peso de la canal fría. El rendimiento de la canal fría y caliente, se calculó dividiendo el peso de la canal entre el peso vivo al sacrificio. Una vez que se obtuvo el peso de la canal fría, se realizó una incisión con un bisturí a 4 cm del borde superior de la última costilla y a 4 cm de distancia de la columna vertebral y se midió el espesor de la grasa subcutánea con un vernier convencional.

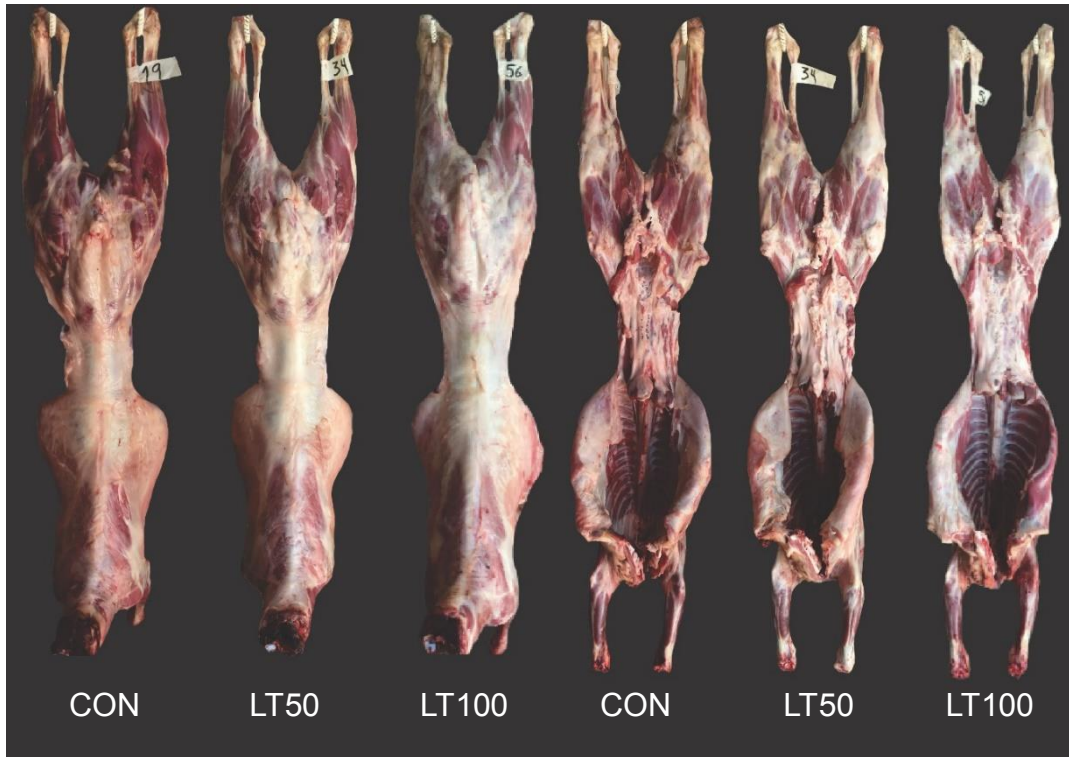


Ilustración 8. Canales de corderos, vista dorsal y ventral

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las variables ganancia diaria de peso, consumo de alimento, conversión y eficiencia alimentaria fueron analizadas considerando un diseño completamente al azar con siete repeticiones por tratamiento. Para ello, se utilizó el procedimiento MIXED de SAS (2002); el tratamiento (dieta) fue incluido como componente fijo en el modelo, mientras que el borrego fue involucrado como componente aleatorio. Las comparaciones de medias se hicieron con la prueba de Tukey (SAS, 2002).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis proximal indicó que la parte aérea del arbusto de gobernadora contiene 85% materia seca, 12% de proteína cruda, 58% de fibra detergente neutro y 10%

de cenizas (base seca) (Tabla 2). Estos resultados indican que la gobernadora contiene cantidades de nutrientes similares a henos o ensilados de gramíneas convencionales como cebada, maíz y zacates de climas templados (NRC, 2001). Duisberg menciona, en 1952, que la gobernadora posee cualidades nutrimentales similares que las del heno de alfalfa, con 14.6% de proteína cruda, 18% de extracto etéreo, 13.4% de fibra cruda y 9.5% de cenizas. Por su parte, Guerrero-Cervantes *et al.* (2012) indicaron que el contenido mineral de la gobernadora (por kg de materia seca: 21 g Ca, 1.9 g P, 1 g Mg, 1 g Na, 9 g K, 22 mg Cu, 374 mg Fe, 84 mg Mn, 62 mg Zn) es mayor que el de la vegetación espontánea de los agostaderos de la zona norte de México. Sin embargo, el contenido mayor de metabolitos secundarios contenidos en la biomasa de gobernadora, en comparación con forrajes convencionales, puede limitar su preferencia de consumo (Estell, 2010).

Tabla 2. Análisis proximal de las dietas experimentales para corderos

|                               | CON  | LT50 | LT100 |
|-------------------------------|------|------|-------|
| Materia seca, %               | 87.0 | 86.7 | 86.1  |
| Proteína cruda, % MS          | 16.1 | 16.5 | 16.7  |
| Fibra detergente neutro, % MS | 14.5 | 14.7 | 14.5  |
| Cenizas, % MS                 | 62   | 63   | 63    |

Durante el experimento, los animales no mostraron signos asociados a intoxicaciones, estrés o patologías, tales como diarrea, anorexia, polidipsia, poliuria, ataxia, vómito, vocalizaciones o cambios en el comportamiento. Después de las

nueve semanas del experimento, se obtuvieron los resultados del ensayo de crecimiento contenidos en la Tabla 3. No hubo diferencias ( $p > 0.05$ ) entre los tratamientos para ganancia de peso y peso final; sin embargo, hubo una tendencia numérica de mayor peso para el grupo control. Los corderos que se alimentaron con las dietas LT50 y LT100 (5 y 10% de materia seca de gobernadora) consumieron menos ( $p < 0.05$ ) alimento que los corderos alimentados con la dieta CON. Como resultado de una reducción en el consumo, los valores de conversión alimentaria fueron disminuidos ( $p < 0.05$ ) por efecto de la dieta con gobernadora, observándose resultados más eficientes en la dieta del grupo LT100. La reducción del consumo por gobernadora pueden ser resultado del contenido de compuestos secundarios, ya que la preferencia o palatabilidad en borregos está relacionado negativamente con concentración de compuestos fenólicos, taninos condensados e hidrolizables y saponinas (Estell, 2010).

No hubo diferencias ( $p > 0.05$ ) para la eficiencia alimentaria entre los diferentes tratamientos (Tabla 3), aun cuando la biomasa de gobernadora es poco palatable para borregas (Duisberg, 1952). En ese contexto, Duisberg (1952) mejoró la palatabilidad de la gobernadora al eliminar la resina con una extracción alcohólica. También, Holechek *et al.* (1990) indicaron que la gobernadora tiene menor palatabilidad y digestibilidad que la alfalfa para cabras, aunque puede ser una fuente importante de nutrientes.

Tabla 3. Variables productivas de corderos alimentados con dietas con 0 (CON), 5 (LT50) y 10 % (LT100) de *L. tridentata*

|  | CON               | LT50              | LT100             | EEM   | <i>P</i> < |
|--|-------------------|-------------------|-------------------|-------|------------|
| Peso inicial, kg                           | 23.90             | 20.714            | 21.628            | 1.393 | 0.27       |
| Peso final, kg                             | 43.38             | 38.48             | 40.02             | 2.089 | 0.27       |
| Ganancia total, kg                         | 19.48             | 17.77             | 18.40             | 1.970 | 0.84       |
| Ganancia de peso (GDP), kg d <sup>-1</sup> | 0.32              | 0.30              | 0.30              | 0.049 | 0.84       |
| Consumo (CMS), kg MS d <sup>-1</sup>       | 1.31 <sup>a</sup> | 1.14 <sup>b</sup> | 1.12 <sup>b</sup> | 0.171 | 0.02       |
| Conversión (CMS/GDP)                       | 4.09 <sup>a</sup> | 3.80 <sup>b</sup> | 3.73 <sup>c</sup> | 0.430 | 0.04       |
| Eficiencia (GDP/CMS)                       | 0.25              | 0.26              | 0.26              | 0.011 | 0.69       |

EEM= Error estándar de la media. Valores con la misma literal son estadísticamente iguales ( $p > 0.05$ )

El pH del fluido ruminal de los corderos alimentados con dietas con biomasa de gobernadora fue similar ( $p > 0.05$ ) que el del grupo control. Sin embargo, el recuento de protozoarios del fluido ruminal y el número de ooquistes en heces fueron menores ( $p < 0.05$ ) conforme se incrementó el porcentaje de materia seca de gobernadora en la dieta (Tabla 4).

Extractos diclorometanólicos de biomasa de gobernadora mostraron actividad contra protozoos patógenos causantes de tripanosomiasis, leishmaniasis y plasmodiosis (Schmidt *et al.*, 2012). En protozoos intestinales (*Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica* y *Naeglia fowleri*) de patogenicidad considerable para humanos, los metabolitos secundarios de materia de gobernadora mostraron ser eficaces para el tratamiento terapéutico de amebiasis, giardiasis y de meningoencefalitis amebiana primaria (Bashyal *et al.*, 2017). Este mecanismo anti

protozoario de los lignanos de gobernadora irrumpe la modulación de la actividad de la proteasa cisteína en los trofozoítos, disminuyendo así su virulencia (Bashyal *et al.*, 2017). La información sobre el efecto de componentes de la biomasa de gobernadora en protozoarios ruminales no patógenos es inexistente, pero el mecanismo anti protozoario puede ser similar al descrito para protozoarios patógenos en seres humanos.

Tabla 4. Valores de pH y número de protozoarios en fluido ruminal, y número de ooquistes en heces de corderos alimentados con dietas con 0 (CON), 5 (LT50) y 10 % (LT100) de *L. tridentata*

|  | CON               | LT50             | LT100            | EEM  | <i>P</i> < |
|--|-------------------|------------------|------------------|------|------------|
| pH   | 6.4               | 6.4              | 6.3              | 0.21 | 0.59       |
| Protozoarios (x 10 <sup>5</sup> mL <sup>-1</sup> ) | 11.8 <sup>a</sup> | 6.4 <sup>b</sup> | 5.2 <sup>c</sup> | 0.02 | 0.02       |
| Ooquistes por g de heces Log <sub>10</sub>         | 12.4 <sup>a</sup> | 8.5 <sup>b</sup> | 7.4 <sup>c</sup> | 0.57 | 0.01       |

EEM= Error estándar de la media.

Al momento del sacrificio, los corderos no mostraron lesiones macroscópicas en hígado, riñones, bazo o intestinos. Como se observa en la Tabla 5, no hubo diferencias ( $p > 0.05$ ) en las características de la canal con los diferentes tratamientos, excepto para la longitud de la canal y la longitud de la pierna resultaron diferentes ( $p < 0.05$ ), obteniendo canales con mayor longitud y de mayor altura en el grupo CON.

Tabla 5. Características de canales de corderos alimentados con dietas con 0 (CON), 5 (LT50) y 10 % (LT100) de *L. tridentata*

|                                | CON                | LT50                | LT100               | EEM  | <i>P</i> < |
|--------------------------------|--------------------|---------------------|---------------------|------|------------|
| Largo de la canal, cm          | 78.71 <sup>a</sup> | 75.57 <sup>ab</sup> | 73.14 <sup>b</sup>  | 1.37 | 0.03       |
| Largo de la pierna, cm         | 43.29 <sup>a</sup> | 36.29 <sup>b</sup>  | 39.71 <sup>ab</sup> | 1.66 | 0.03       |
| Perímetro de la grupa, cm      | 63.57              | 59.07               | 62.86               | 1.64 | 0.17       |
| Ancho de la grupa, cm          | 16.71              | 16.29               | 16.14               | 0.67 | 0.83       |
| Perímetro de tórax, cm         | 82.71              | 80.36               | 79.21               | 1.56 | 0.31       |
| Ancho de tórax, cm             | 16.43              | 15.86               | 15.50               | 0.47 | 0.39       |
| Profundidad de tórax, cm       | 36.43              | 32.57               | 33.14               | 1.31 | 0.12       |
| Espesor de la grasa dorsal, cm | 2.61               | 1.94                | 2.17                | 0.49 | 0.65       |

EEM= Error estándar de la media. Valores con la misma literal son estadísticamente iguales ( $p>0.05$ )

En cuanto al rendimiento de la canal, como puede observarse en la Tabla 6, los pesos en la canal fría y caliente fueron similares ( $p>0.05$ ). De igual manera, no se observaron diferencias en el rendimiento de la canal fría y caliente de los animales tratados con las dietas experimentales y la dieta control.

Tabla 6. Rendimiento de canales de corderos alimentados con dietas con 0 (CON), 5 (LT50) y 10 % (LT100) de *L. tridentata*

|                               | CON   | LT50  | LT100 | EEM  | <i>P</i> < |
|-------------------------------|-------|-------|-------|------|------------|
| Peso canal caliente, kg       | 21.60 | 18.44 | 18.34 | 1.02 | 0.07       |
| Peso canal fría, kg           | 21.32 | 18.19 | 18.27 | 1.03 | 0.08       |
| Rendimiento canal caliente, % | 50.06 | 47.71 | 46.17 | 1.66 | 0.31       |
| Rendimiento canal fría, %     | 49.42 | 47.04 | 45.96 | 1.66 | 0.38       |

EEM= Error estándar de la media.

A pesar de que la ganancia de peso final entre los tres tratamientos fue estadísticamente similar, el consumo de alimento fue menor en las dietas experimentales, lo que resulta en una mejor conversión alimenticia. De igual manera, al realizar la evaluación de las canales, se obtuvieron medidas similares y los resultados del rendimiento y las principales características de la canal no mostraron diferencias. De esta manera, al incorporar a *L. tridentata* en como forraje en la elaboración de dietas para corderos de engorda, se obtienen mejores resultados en el desempeño productivo de los animales, en comparación con una dieta elaborada con ingredientes tradicionales. Una reducción en el consumo de alimento, así como la utilización de ingredientes alternativos, se traduce en mejores resultados en la conversión de alimento y por lo tanto, una disminución en los costos de producción sin que el rendimiento y las principales medidas en la evaluación de canales se vean afectadas.

En general, la salud de los corderos fue normal posiblemente a que no consumieron cantidades grandes de lignanos. De acuerdo con Lodge-Ivey *et al.* (2012), *L. tridentata* contiene 38 mg/g NDGA; entonces, en corderos con un consumo diario de 12.5 g de NDGA puede causar daños sobre la población bacteriana del rumen y la salud del animal. Por lo tanto, en el presente estudio, considerando estas concentraciones de NDGA, los corderos alimentados con la dieta con 10% de gobernadora pudieron haber consumido 1.12 kg diarios de alimento, lo cual implica un consumo diario de 4.2 g de NDGA.



Los efectos del consumo de gobernadora en las poblaciones y metabolitos ruminales, digestibilidad de nutrientes y calidad de carne y leche, se desconocen. Por lo tanto, estudios con gobernadora que evalúen cambios y adaptabilidad de las poblaciones ruminales y como éstos afectan el metabolismo ruminal y general de rumiantes, son necesarios.

## CONCLUSIONES

Los resultados sugieren que el uso de 10% de gobernadora como fuente de forraje en dietas para corderos no incrementó la ganancia diaria de peso, pero redujo la carga de ooquistes de *Eimeria* spp. en las heces, lo cual puede ser de utilidad como coccidiostato en ovinos. A pesar de que gobernadora redujo el consumo de alimento, los resultados indican que la inclusión de biomasa de *L. tridentata* como forraje en la dieta puede ser conveniente en la finalización de corderos.

## REFERENCIAS

- Aguirre-Joya, J. A., Pastrana-Castro, L., Nieto-Oropeza, D., Ventura-Sobrevilla, J., Rojas-Molina, R., & Aguilar, C. N. (2018). The physicochemical, antifungal and antioxidant properties of a mixed polyphenol based bioactive film. *Heliyon*, 4, e00942.
- Alvídrez-Morales, A., González-Martínez, B. E., & Jiménez-Salas, Z. (2002). Tendencias en la producción de alimentos: Alimentos funcionales. *RESPyN*, 3(3), 1-6.

AOAC (2006): Official Methods of Analysis. 18th edition. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA. [www.aoac.org](http://www.aoac.org)

Arteaga, S., Andrade-Cetto, A., & Cárdenas, R. (2005). *Larrea tridentata* (Creosote bush), an abundant plant of Mexican and US-American deserts and its metabolite nordihydroguaiaretic acid. *Journal of Ethnopharmacology*, 98, 231-239.

Bashyal, B., Li, L., Bains, T., Debnath, A., LaBarbera, D. V. (2017). *Larrea tridentata*: A novel source for anti-parasitic agents active against *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia* and *Naegleria fowleri*. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 11(8), e0005832.

Bodas, R. (2004). *EL bicarbonato sódico en la alimentación de corderos en la etapa de crecimiento-cebo y de ovejas en lactación*. Tesis doctoral. Universidad de León.

Borja, M., Reyes, L., Espinosa, J. A., & Vélez, A. (2016). Estructura y funcionamiento de la cadena productiva de esquilmos agrícolas como forraje en la región del bajío, México. *Revista mexicana de agronegocios*, 39, 451-464.

Caceres, O., & Gonzalez, E. (2002) Valor nutritivo de árboles, arbustos y otras plantas forrajeras para los rumiantes. *Pastos y Forrajes*, 25,15-20.

- Cañeque, V., Guía, E., & Lauzurica, S. (1987). Efecto sobre el consumo y la calidad de la canal de la utilización de heno de alfalfa o paja como alimento de volumen en el engorde intensivo de corderos. *ITEA*, 7, 156-161.
- Cervantes, M. E. (2016). Evaluación etnofarmacológica de la curcumina (*Curcuma longa*) en ovinos estabulados infectados con *Eimeria* spp. Tesis de doctorado. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Colomer-Rocher, F. (1984). Metodología de clasificación de canales ovinas. *Cuadernos INIA No. 17*. Instituto de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria. Ministerio de Ciencia y Tecnología Madrid-España.
- Cuesta, A., Ranilla, M. J., Giráldez, F. J. Mantecón, A. R. y Carro, M. D. (2003). Efecto de la inclusión de malato en el pienso de corderos en cebo, sobre la ingestión, la digestibilidad y el rendimiento productivo. *ITEA*, 24(2), 762-764.
- De Melo, G. O., Malvar, D. C., Vanderlinde, F. A., Rocha, F. F., Pires, P. A., Costa, E. A., Matos, L. G., Kaiser, C. R., & Costa, S. S. (2009). Antinociceptive and anti-inflammatory kaempferol glycosides from *Sedum dendroideum*. *Journal of Ethnopharmacology*, 124(2), 228-232.
- Dehority, B. A. (1984). Evaluation of subsampling and fixation procedures used for counting rumen protozoa. *Applied and Environmental Microbiology*, 48(1), 182-185.
- Duisberg, P. C. (1952). Development of a feed from the Creosote Bush and determination of its nutritive value. *Journal of Animal Science*, 11(1), 174-180.

- Estell, R. E. (2010). Coping with shrub secondary metabolites by ruminants. *Small Ruminant Research*, 94, 1-9.
- Foreyt, W. J. (2001). *Veterinary Parasitology Reference Manual*. 5th ed. Ames, Iowa, USA: Blackwell Publishing Professional.
- Garcia, J. E., Gómez, L., Mendoza-de-Gives, P., Rivera-Corona, J. L., Millán-Orozco J., Ascacio, J. A., Medina, M. A., & Mellado, M. (2018). Anthelmintic efficacy of hydro-methanolic extracts of *Larrea tridentata* against larvae of *Haemonchus contortus*. *Tropical Animal Health and Production*, 50, 1099-1105.
- Galaviz, J. R., Zaragoza, J. L., & Corona, V. (2011). Alimentación para ovinos de la región norponiente de Tlaxcala. Folleto Técnico No. 46, INIFAP. México.
- Gnabre, J., Bates, R., & Chih Huang, R. (2015). Creosote bush lignans for human disease treatment and prevention: perspectives on combination therapy. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 5, 119-126.
- Gómez y González, A., Pinos Rodríguez, J.M., & Aguirre Rivera, J.R. (2009). *Manual de Producción Caprina*. Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, S.L.P., México.
- González, R., Córdova, C., Torres, G., Mendoza, P., & Arece, J. (2011). Prevalencia de parásitos gastrointestinales en ovinos sacrificados en un rastro de Tabasco, México. *Vet Mex*, 42(2), 125-135.

- Guerrero-Cervantes, M., Ramírez, R. G., González-Rodríguez, H., Cerrillo-Soto, A., & Juárez-Reyes, A. (2012). Mineral content in range forages from north Mexico. *Journal of Applied Animal Research*, 40(2), 102-107.
- Haddad, S. G., & Husein, M. Q. (2001). Nutritive value of lentil and vetch straws as compared with alfalfa hay and wheat straw of replacement ewe lambs. *Small Ruminant Research*, 40, 255-260.
- Holechek, J. L., Munshikpu, A. V., Saiwana, L., Nunez Hernandez, G., Valdez, R., Wallace, J. D., & Cardenas, M. 1990. Influences of six shrub diets varying on phenol content on intake and nitrogen retention by goats. *Tropical Grasslands*, 24, 93-98.
- Hwu, J. R., Hsu, M. H., & Huang, R. C. (2008). New nordihydroguaiaretic acid derivatives as anti-HIV agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 18, 1884-1888.
- Hyder, P. W., Fredrickson, E. L., Estell, R. E., Tellez, M., & Gibbens, R. P. (2002). Distribution and concentration of total phenolics, condensed tannins, and nordihydroguaiaretic acid (NDGA) in Creosote bush (*Larrea tridentata*). *Biochemical Systematics and Ecology*, 30(10), 905-912,
- Jitsuno, M., & Mimaki, Y. (2010). Triterpene glycosides from the aerial parts of *Larrea tridentata*. *Phytochemistry*, 71, 2157-2167.
- Jolley, W. R., & Bardsley, K. D. (2006). Ruminant Coccidiosis. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 22(3), 613–621.

- Kasapidou, E., Sossidou, E., & Mitlianga, P. (2015). Fruit and vegetable co-products as functional feed ingredients in farm animal nutrition for improved product quality. *Agriculture*, 5(4), 1020–1034.
- Koeslag, J. H. (2010). *Ovinos*. México: Editorial Trillas SEP.
- Lodge-lvey, S. L., Petersen, J., & Browne-Silva, J. (2012). Effects of nordihydroguaiaretic acid on in vitro fermentation profiles of rumen bacteria. *Journal of Animal Science*, 90, 4118-4125.
- Luiselli Fernández, C. (2007). *Agricultura y Alimentación en México: evolución, desempeño y perspectivas*. México, Ciudad de México: Siglo XXI Editores.
- Mellado, M., Rodríguez, A., Villareal, J. A., Rodríguez, R., Salinas, J., & López, R. (2005). Gender and tooth wear effects on diets of grazing goats. *Small Ruminant Research*, 57(2-3), 105-114.
- Méndez, J. C. (2006). *Calidad nutrimental de árboles y arbustos con potencial forrajero para rumiantes del Altiplano Potosino*. Tesis de maestría. Universidad Autónoma de San Luis Potosí.
- Mertens, D. R. (2002): Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fibre in feeds with refluxing beakers or crucibles: collaborative study. *Journal of the Association Official Analytical Chemists*, 85, 1217-1240.
- Norma Oficial Mexicana NOM-033-SAG/ZOO-2014, Métodos para dar muerte a los animales domésticos y silvestres. Diario Oficial de la Federación. México.

- NRC, 1985. Nutrient Requirement of Sheep. 6th Revised Edition. Washington D.C., USA: National Academy Press.
- NRC, 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle, 7th Revised Edition. Washington D.C., USA: National Academy Press.
- Partida, J. A. (2016). Capítulo 2 Producción y calidad de la carne ovina en México. En I. A. Domínguez (Ed). *Avances de investigación en ciencia y tecnología de la carne* (pp. 27-40). México: Ediciones EÓN
- Partida, P. J. Braña, V. D., Jiménez, S. H., Ríos, R. F. G., & Buendía, R. G. (2013). Producción de carne ovina. Libro Técnico núm. 5. CENID-FyMA, INIFAP. México.
- Peña, L. Y. (2015). *Valoración de la vaina de mezquite (Prosopis laevigata) para la alimentación de rumiantes*. Tesis de doctorado. Universidad Autónoma de San Luis Potosí.
- Pérez-Lanzac, J., Bendicho de Combellas, J., & Castro, A. (1988). Tecnología de los piensos para corderos. I. Crecimientos y composición de la canal de corderos alimentados con piensos granulados de distinto contenido en fibra. *Avances en alimentación y mejora animal*, 28(1), 3-10.
- Phillips, W. A., Reuter, R. R., Brown, M. A., Fitch, J. Q., Rao, S. R., & Mayeux, H. (2002). Growth and performance of lambs fed finishing diet containing either alfalfa or kenaf as the roughage source. *Small Ruminant Res*, 46, 75-79.

- Ramírez, R. (2009). Forrajes nativos, una alternativa sustentable en la alimentación de rumiantes. *Ciencia UANL*, 12(1), 4-5.
- Rinehart, L. (2008). Nutrición para rumiantes en pastoreo. ATTRA- Servicio Nacional de Información de agricultura sostenible. Recuperado el 20 de noviembre de 2019, de <https://attra.ncat.org/attra-pub/download>
- Rodríguez, A. B. (2005). *Alternativas a los sistemas actuales de alimentación en el cebo intensivo de corderos: Efecto de la supresión de la paja de la ración y la utilización del cereal en grano sobre la ingestión, el crecimiento y las características de la canal y de la carne*. Tesis de doctorado. Universidad de León.
- Rossanigo, C. E. (2007). Coccidiosis y criptosporidiosis. En V. H. Suárez, F. V. Olaechea, C. E. Rossanigo & J. R. Romero (Eds). *Enfermedades parasitarias de los ovinos y otros rumiantes menores en el cono sur de América* (pp. 231-236). Argentina: EEA Anguil, INTA.
- Ruíz, D. R. (2011). *Uso potencial de la vaina de mezquite para la alimentación de animales domésticos del Altiplano Potosino*. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de San Luis Potosí.
- SAS; Statistical Analysis System. (2002). SAS/STAT 9 User's Guide. Carry, NC, USA: SAS Institute Inc.



- Schmidt, T. J., Rzeppa, S., Kaiser, M., & Brun, R. (2012). *Larrea tridentata* – Absolute configuration of its epoxy lignans and investigations on its antiprotozoal activity. *Phytochemistry Letters*, 5, 632-638.
- Shimada, A. (2003). *Nutrición animal*. México: Editorial Trillas.
- SIAP (Servicio de Información y Estadística Agroalimentaria y Pesquera, SAGARPA). (2018). Anuario Estadístico de la Producción Ganadera. Obtenido de: [https://nube.siap.gob.mx/cierre\\_pecuario/](https://nube.siap.gob.mx/cierre_pecuario/) Fecha de consulta: 18 de noviembre de 2019.
- Skouta, R., Morán-Santibañez, K., Valenzuela, C. A., Vasquez, A. H., & Fenelon, K. (2018). Assessing the antioxidant properties of *Larrea tridentata* extract as a potential molecular therapy against oxidative stress. *Molecules*, 23, 1826.
- Stock, R. A., Sindt, M. H., Parrott, J. C., & Goedeken, F. K. (1990). Effects of grain type, roughage level and monensin level on finishing cattle performance. *J Anim Sci*, 68, 3441-3455.
- Villalobos, V. M., García M., & Ávila, F. (2017). *El Agua para la Agricultura de las Américas*. San José, Costa Rica: IICA y Fundación COLPOS.
- Zaragoza, J. L., & Castrellón, M. J. (1999). Los arbustos y árboles en la nutrición de rumiantes. En *Memorias del II Seminario Internacional: Estrategias de suplementación a bovinos en pastoreo*. Universidad Autónoma Chapingo.



# **CAPÍTULO III**

## CAPÍTULO III. GENERACIÓN DE ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO Y DAÑO AL ADN EN CORDEROS

### RESUMEN

La *Larrea tridentata* (gobernadora) es una planta ampliamente distribuida en las zonas áridas y semiáridas de México y el sur de Estados Unidos. Debido a su valor nutricional, es un recurso vegetal que puede ofrecer ventajas en la nutrición de rumiantes, sin embargo no es consumida habitualmente debido su olor astringente y su baja palatabilidad. De manera popular, *L. tridentata* es considerada como una planta tóxica que genera efectos negativos al ser consumida. Actualmente, existen pocas evidencias científicas que informen de los efectos del uso de la gobernadora como alimento para rumiantes. El objetivo principal de esta investigación fue evaluar el estrés oxidativo mediante la determinación de especies reactivas de oxígeno (ROS) por citometría de flujo, así como el daño al ADN mediante el ensayo cometa, en células mononucleares de sangre periférica de corderos alimentados con 0, 5 y 10 % de *L. tridentata* durante un periodo de engorda de 60 días. Como objetivo secundario, se estimó el consumo diario de NDGA como marco de referencia. Se obtuvieron valores de intensidad de fluorescencia media (IFM) menores en los corderos alimentados con 10% de *L. tridentata* ( $p < 0.05$ ) que corresponden a un menor estrés oxidativo. Los valores asociados al daño al ADN demostraron un daño menor en el mismo grupo de animales ( $p < 0.05$ ). Estos resultados muestran el efecto antioxidante de la planta al ser utilizada como un alimento funcional en la elaboración de dietas tradicionales de engorda.

**PALABRAS CLAVE:** *Larrea tridentata*, ESTRÉS OXIDATIVO, ENSAYO COMETA.

## INTRODUCCIÓN

*Larrea tridentata* es una planta arbustífera de la familia de las zigofiláceas. Se encuentra ampliamente distribuida en las zonas áridas del norte y centro de México y del sur de los Estados Unidos (Merriam, 1893). Se le han atribuido diversas propiedades como antibióticas, antimicrobianas, antifúngicas, antioxidantes, entre otras, por lo que ha sido ampliamente utilizado en la herbolaria tradicional en la preparación de infusiones y soluciones (Arteaga, *et al.*, 2005; Lira-Saldívar, 2003; Martins, *et al.*, 2012; Rzedowski, 2006). Entre los principales componentes de la planta se encuentran diversos polifenoles tales como kaempferol, ácido dihidroguaiarético, Hemi—norisoguaiacin, Apigenin y ácido nordihidroguaiarético (NDGA) principalmente (Lira-Saldívar, *et al.*, 2003; Gisvold y Thaker, 1974), siendo éste último el compuesto presente en mayor proporción (Gonzalez-Coloma, *et al.*, 1988; Waller y Gisvold, 1945; Duisberg, *et al.*, 1945; Valentine, *et al.*, 1984; Wellendorf, 1964; Arteaga *et al.*, 2005).

El NDGA es el lignano al cual se le han atribuido propiedades antioxidantes, razón por la cual fue muy utilizado en la industria alimentaria desde los años 40's como conservador. Debido a esto, se han realizado investigaciones para determinar sus efectos y su inocuidad. Estos estudios demostraron que en consumo crónico produce daño en túbulos renales y células hepáticas en ratas (De Smet, 1993). A causa de lo anterior, el NDGA fue retirado de la lista de sustancias seguras por la Food and Drug Administration (FDA) en Estados Unidos (Tyler, 1987; Barceloux, 2008).

El NDGA se encuentra principalmente en la resina que cubre la hoja, aunque se han encontrado cantidades mínimas en los tallos. La concentración del NDGA en la hoja puede variar de acuerdo a la madurez de la planta. En hojas jóvenes, los polifenoles constituyen el 80% de la resina, de los cuales el 62.5% es NDGA, lo que corresponde a un 50% del contenido total de la resina (Gonzalez-Coloma, *et al.*, 1988). Tomando en cuenta los datos anteriores, se calcula que en hojas jóvenes de *L. tridentata* se tiene una concentración de NDGA de 100 mg/g. En la Tabla 7 se mencionan las concentraciones de NDGA por gramo de hoja calculadas por diversos autores.

Tabla 7. Concentración de ácido nordihidroguaiarético (NDGA) en hojas secas de *L. tridentata*

| Autor (es), año                                      | NDGA, mg g |
|--|------------|
| Valentine, <i>et al.</i> , 1984                      | 16         |
| Lodge-Ivey, <i>et al.</i> , 2012                     | 38         |
| De Smet, 1993; Gonzalez-Coloma, <i>et al.</i> , 1988 | 40 – 100   |
| Gisvold, 1948  | 65.5       |
| Wellendorf, 1964                                     | 93 - 150   |

A pesar de la existencia de reportes toxicológicos en varios estudios realizados con animales de laboratorio, en estos no se incluye la dosis letal en mg por kg de peso corporal, por lo cual no se tiene un dato confiable de la dosis letal media (DL<sub>50</sub>) (De Smet, 1993). En primeras investigaciones que se efectuaron acerca de la toxicidad

del NDGA, se reportó una  $DL_{50}$  aproximada de 4000 mg/kg en ratones y 5500 mg/kg en ratas (Gisvold, 1948; Grice, *et al.*, 1968; Goodman, *et al.*, 1970); mientras que en otro estudio donde se les administró 1 g de NDGA/kg de peso corporal en el alimento durante seis semanas, se observó una disminución en la tallas y en el consumo de alimento (Gardner, *et al.*, 1986).

A pesar de su toxicidad, el NDGA ha mostrado propiedades antioxidantes (Kelly, *et al.*, 2001) a dosis menores, lo cual ha fomentado la realización de estudios para valorar estos efectos. Estos estudios se han llevado a cabo en cultivos celulares de tejido y flora microbiana aislada, así como en animales de laboratorio en condiciones controladas. Sin embargo, estas investigaciones no reproducen las condiciones naturales en las que un animal consume la planta *L. tridentata* como alimento, y los efectos que puedan presentarse derivados de esta dieta.

Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue identificar los efectos tóxicos de *L. tridentata* al ser consumida por corderos en una dieta de engorda, para lo cual se eligieron dos pruebas para la determinación de daño celular.

La primera de ellas fue la cuantificación de especies reactivas de oxígeno (ROS). Las especies reactivas de oxígeno son compuestos que se forman en condiciones patológicas como cáncer, exposición a agentes tóxicos, isquemia, infecciones, enfermedades autoinmunes, procesos inflamatorios, entre otros; sin embargo, también se generan de manera fisiológica en el metabolismo celular (Chen, *et al.*, 2010). Estas especies incluyen principalmente compuestos como el peróxido de

hidrógeno ( $H_2O_2$ ), óxido nítrico (NO), anión óxido ( $O_2^-$ ), peroxinitrito ( $ONOO^-$ ), ácido hipocloroso (HOCl) y radical hidroxilo ( $OH^\cdot$ ) y son detectados mediante fluorescencia (Wu y Yotnda, 2011). La prueba que se llevó a cabo, cuantifica la intensidad media de fluorescencia que las células teñidas con un colorante (2', 7'-diclorofluoroscein-diacetato [DFCH-DA]) emiten en condiciones de estrés (Rastogi, *et al.*, 2010).

Para la segunda prueba, se eligió el ensayo cometa, que cuantifica el daño al ADN o genotoxicidad. Esta prueba permite determinar gráficamente la cantidad de material genético que es liberado de la célula. Debido a que es una prueba sencilla y poco invasiva, ha sido muy popular y frecuentemente utilizada para determinar dosis seguras de fármacos experimentales, efectos de nutrientes en la reparación celular, evaluación de organismos vivos y pruebas en humanos, entre otros (Piperakis, 2009).

El método descrito por Singh *et al.* (1988) identifica el daño al ADN de células individuales, cuantificando la fragmentación de fibras simples de ADN de células previamente lisadas, sometidas a electroforesis en medios alcalinos y teñidas con bromuro de etidio. Se denomina Ensayo Cometa por la figura que forma la célula y el material genético fragmentado, como la cabeza y la cauda de un cometa. Las estimaciones del daño se realizan mediante el número de células afectadas, los fragmentos de ADN y la longitud de migración. Para este estudio, se utilizó la técnica para el ensayo en linfocitos humanos descrito por González-Mille *et al.* (2012).



## REVISIÓN DE LITERATURA

### **La generación de especies reactivas de oxígeno y el estrés oxidativo**

El oxígeno es un elemento esencial para la respiración celular. Durante este proceso, el oxígeno sufre una reducción por una vía alterna de la enzima citocromo oxidasa, generando formas moleculares de oxígeno parcialmente reducidas, o llamadas especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés Reactive Oxygen Species). Estas especies, a pesar de ser producidas de manera cotidiana y en condiciones fisiológicas controladas en los organismos vivos, son causantes del llamado estrés oxidativo (EO) (Halliwell y Gutteridge, 2007). El EO ocurre cuando se altera el balance entre sustancias prooxidantes y antioxidantes, es decir, la homeostasis celular de óxido-reducción (Blankenberg *et al.* 2003). Los agentes antioxidantes pueden actuar como prooxidantes cuando se usan en altas concentraciones (Delmas, *et al.*, 2011; Carochó y Ferreira, 2013).

### **Prooxidantes**

Entre las sustancias prooxidantes se encuentran los radicales libres que tienen un electrón no apareado, lo que genera una alta capacidad para reaccionar con diversos compuestos. A su vez, estos radicales forman parte de las llamadas ROS, y su importancia radica en su alta reactividad química, que permite que causen modificaciones en macromoléculas de importancia biológica tales como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos (Jerlich *et al.*, 2000).

El daño a nivel de lípidos es conocido como peroxidación lipídica, que afecta a las membranas celulares a través de la oxidación de fosfolípidos y triglicéridos contenidos en ella. Esto tiene efectos en la permeabilidad de la célula, lo que puede causar edema y en algunos casos muerte celular (Jerlich *et al.*, 2000).

La peroxidación de los fosfolípidos de la membrana celular involucra un incremento en la actividad de las fosfolipasas, principalmente la A2 (PLA2) (Kagan *et al.*, 1978; Sevanian *et al.*, 1988; Sevanian y Kim, 1985; Shaikh y Downar, 1981). Esta enzima libera el ácido araquidónico para luego ser metabolizado por los sistemas enzimáticos de la ciclooxigenasa y la lipooxigenasa. El ácido araquidónico es un ácido graso que se encuentra en los fosfolípidos y triglicéridos de las membranas celulares, y es precursor de los eicosanoides, que incluyen a las prostaglandinas y leucotrienos (Wilson, *et al.*, 1989). Los eicosanoides han sido estudiados por su asociación con el desarrollo tumoral, proliferación celular, metástasis y vigilancia inmune (Fisher, 1997).

Los metabolitos resultantes, prostaglandinas y leucotrienos, están involucrados en el proceso inflamatorio, de manera que el efecto del NDGA como inhibidor de la lipooxigenasa y del ácido araquidónico, tiene como resultado un efecto preventivo en el desarrollo de la inflamación y es además un agente antiproliferativo en células *in vitro* (Wilson, 1989). Otros efectos como el envejecimiento, enfermedades degenerativas y cáncer, así como isquemia tisular general, son atribuidos a la peroxidación lipídica (Bermond, 1990).

Por otro lado, los daños a proteínas incluyen principalmente la oxidación de algunos aminoácidos como histidina, metionina, tirosina y fenilalanina, formación de grupos carbonilo y modificación de cadenas peptídicas mediante el entrecruzamiento (Venereo, 2003). Los cambios estructurales tendrán en consecuencia cambios en la función de los péptidos y proteínas afectados.

### **Daño al ADN**

Además de los efectos inflamatorios derivados de la peroxidación lipídica y la oxidación de aminoácidos, la generación de ROS y el daño a la membrana celular pueden ocasionar la pérdida de la funcionalidad de los organelos provocando daños en el material genético de las células (Venereo, 2003).

La estructura del ADN es susceptible al ataque de ROS tanto a nivel de cromosomas, genes, desoxirribosa y bases nitrogenadas, de manera que se pueden presentar una variedad de efectos que van desde la modificación de bases, la generación de sitios apúricos o apirimidínicos (AP) por la ruptura del enlace glicosídico, la ruptura de una de las cadenas de la doble hélice y mutaciones, hasta la activación de oncogenes e inactivación de los genes supresores y daño endotelial, que puede favorecer la activación de procesos carcinogénicos y metastásicos (Guyton y Kensler, 1993; Venereo, 2003; Zorrilla-García, *et al.*, 2014).

De los efectos tóxicos, la carcinogénesis es de especial interés en el estudio de ROS, ya que se ha comprobado que pueden estimular el desarrollo tumoral en las

etapas de inducción o iniciación, en la promoción de la expansión tumoral y en la progresión del tumor o malignización. (Dreher *et al.*, 1996; Ahmed *et al.*, 1995; Lelkes *et al.*, 1998; Maki *et al.*, 1992; Dreher *et al.*, 1995).

## **Antioxidantes**

Para protegerse de los efectos adversos del EO, las células poseen mecanismos moleculares en los cuales intervienen los antioxidantes, que son moléculas con la capacidad de prevenir y/o evitar la oxidación de otra molécula. La interacción de los antioxidantes con las ROS puede llevar a la estabilización, o bien, a su transformación en configuraciones de mayor estabilidad y por lo tanto, de menor reactividad (Halliwell y Gutteridge, 2007; Sies, 1986).

Los antioxidantes pueden clasificarse de acuerdo a su peso molecular. Los de alto peso molecular son las llamadas enzimas antioxidantes, mientras que aquellos de menor peso molecular son de diversa naturaleza química, como las vitaminas E y C, los carotenos, el ácido úrico, el glutatión reducido o GSH, los compuestos fenólicos, entre otros (Halliwell y Gutteridge, 2007; Sies, 1986; Bors y Michel, 1999).

En el grupo de las enzimas con actividad antioxidante se encuentran la superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (Cat) y la glutatión peroxidasa (GPx), las cuales tienen efecto sobre las especies superóxido y peróxido de hidrógeno, convirtiéndolas a moléculas más estables como O<sub>2</sub> y agua. Su acción evita a formación de especies más reactivas como el radical hidroxilo (<sup>-</sup>OH) (Sáez, 2005; Blackenberg *et al.* 2003).

A pesar de ser considerado como antioxidante, el NDGA ha sido probado para medir la citotoxicidad en hepatocitos, dados los antecedentes de toxicidad en humanos. En un estudio conducido por Sahu y colaboradores en 2006, con cultivo de hepatocitos de rata, se encontró que en un rango de concentración de 20-100  $\mu\text{M}$  el NDGA presentó un efecto prooxidante. Este efecto doble puede depender de la concentración, ya que en concentración menor a 10  $\mu\text{M}$ , el NDGA mostró un efecto antioxidante en macrófagos alveolares de rata (Robinson *et al.*, 1990).

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

El experimento se llevó a cabo con 21 corderos machos Rambouillet con un promedio de edad de 3 meses, que fueron asignados aleatoriamente a tres grupos experimentales con tres niveles de *L. tridentata* en base seca incluida como forraje en la dieta: 0% (CON, n=7), 5% (LT50, n=7) y 10% (LT100, n=7). Los animales fueron alojados individualmente y alimentados a libre acceso por 60 días, con un período previo de adaptación de tres semanas.

### **Especies reactivas de oxígeno (ROS)**

#### *Obtención y separación de células mononucleares de sangre periférica*

Los animales fueron mantenidos en ayuno de agua y alimento de 12 horas previas a la toma de muestra. Posteriormente, se obtuvieron 4 ml de sangre por cada animal mediante punción de la vena yugular que fue recolectada en tubos vacutainer con EDTA como anticoagulante. La separación de células mononucleares fue mediante

un gradiente de Ficoll-paque. Se diluyó la sangre a razón de 1:1 con buffer de fosfatos estéril (PBS). Posteriormente, se agregó 2 ml de Ficoll-paque y se centrifugó a 2500 rpm durante 20 minutos. Se obtuvieron las células mononucleares y se depositaron en tubos de cultivo; se les agregó PBS y se centrifugaron a 1800 rpm durante 15 minutos para realizar el lavado de las células. Se desechó el sobrenadante, se re-suspendió el paquete de células mononucleares en medio RPMI-1640 suplementado y se ajustó la densidad celular a  $1 \times 10^6 \text{ ml}^{-1}$  (Orta-García *et al.*, 2015).

#### *Cuantificación intracelular de especies reactivas de oxígeno (ROS)*

Se colocaron  $1 \times 10^5$  células mononucleares en tubos Falcon de 5 ml por duplicado para cada condición (control de vehículo, control positivo, grupo control, grupo A y grupo B). Se agregó 2  $\mu\text{l}$  de 2', 7'-diclorofluoroscein-diacetato (DFCH-DA) 20  $\mu\text{M}$  y se incubaron a 37°C protegidas de la luz durante 30 minutos. Los datos fueron analizados usando un citómetro de flujo BD FACS Modelo Calibur con una longitud de onda de excitación de 480 nm / una longitud de onda de emisión de 530 nm (Becton-Dickinson, San Jose, CA, USA). Se analizó un mínimo de 10, 000 eventos por muestra y los resultados expresan la intensidad media de fluorescencia (IMF) que es proporcional a la generación de ROS (Pérez-Maldonado *et al.*, 2005).

## **Daño al ADN (Ensayo Cometa)**

### *Preparación de las laminillas y la solución lisis*

Para la preparación de las laminillas, se procedió a colocar 150 uL de agarosa regular (Sigma-Aldrich), y se distribuyó por toda la superficie. A continuación se secaron las laminillas en el horno, a una temperatura entre 65 y 70° C. La solución de lisis (pH 10) se preparó con Tris-HCl (Sigma) 10 mM, NaCl 2.5 M (J.T. Baker/ACS) y Na<sub>2</sub> EDTA (Sigma) 0.1 M. Finalmente, se agregó el 10% de DMSO (Sigma) y 1% de Tritón 100 X (Sigma-Aldrich). La solución fue vertida en vasos Coplin y enfriada previamente a su uso.

De cada muestra de sangre obtenida en tubo Vacutainer con heparina, se tomó una alícuota de 15 µL en tubos cónicos de 2 ml (Eppendorf), se agregaron 225 µL de agarosa de bajo punto de fusión y se procedió a agitar en vórtex. De esta mezcla, se tomaron 75 µL, se colocaron en las laminillas con agarosa y se cubrieron con cubreobjetos. A continuación, las laminillas fueron refrigeradas durante 5 minutos y enseguida se retiraron los cubreobjetos para agregar 75 uL de agarosa de bajo punto de fusión. Se colocaron cubreobjetos y se refrigeraron nuevamente por 5 min. Terminado el tiempo, se retiraron los cubreobjetos y se colocaron las laminillas en los vasos Coplin, conteniendo la solución de lisis (González-Mille *et al.*, 2012)

### *Electroforesis*

La electroforesis se llevó a cabo siguiendo la técnica descrita por Singh *et al.*, con algunas variaciones. El proceso se llevó a cabo en un cuarto frío, a una temperatura

de 4° C, en condiciones de oscuridad y con la ayuda de una lámpara de luz amarilla. Se preparó solución de electroforesis con NaOH (J.T. Baker/ACS) 300 nM y Na<sub>2</sub>EDTA 10 mM a pH > 13). Se ajustó la cámara para asegurar la posición horizontal y se añadió la solución de electroforesis hasta cubrir las laminillas. Se dejaron reposar durante 20 minutos para favorecer el desenrollamiento del ADN. Para proceder con la electroforesis, los parámetros de operación de la fuente de poder fueron de 25 V y 300 mA.

Después de la electroforesis, las laminillas fueron enjuagadas con buffer Trisma Base 0.4 M. Después de dejar reposar por 5 minutos, se repitió el lavado para posteriormente agregar etanol anhidro. Después de 5 minutos se repitió este lavado y se dejaron secar para guardarlas. Para su observación, las laminillas fueron teñidas justo antes del análisis con bromuro de etidio (Sigma-Aldrich) (0.05mM), y se les colocó un cubreobjetos.

El nivel de daño al ADN fue mediante un análisis de imagen en 100 células mononucleares seleccionadas al azar por cada muestra de sangre, usando un microscopio de epifluorescencia (Nikon Eclipse E400) *Figura 2*. La amplificación de la imagen de los cometas fue de 200x. Se calculó el Olive Time Moment (OTM), la longitud de la cola (TL) y el % de ADN en la cola (tail%DNA) como indicadores de daño, usando el software Komet, v 4.0 Kinetic Imaging Ltd., Bromborough, UK. El cálculo del OTM se realizó mediante la fórmula:

$$\text{OTM} = (\text{Media de la cola} - \text{Media de la cabeza}) \times \% \text{ ADN cola} / 100$$

(González-Mille *et al.*, 2012).



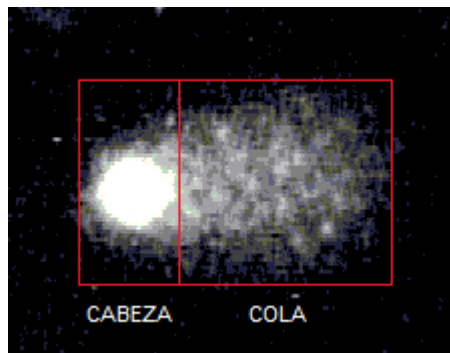


Figura 2. Medición del daño al ADN

#### *Cálculo de la concentración de NDGA en dietas*

Para calcular la concentración ingerida de NDGA en los grupos de estudio, se tomaron los datos reportados en la literatura de las concentraciones mínima (16 mg/g) y máxima (150 mg/g) de NDGA por gramo de hoja de *L. tridentata* en base seca (Valentine *et al.*, 1984; Wallendorf, 1964), y se consideró el peso promedio de los corderos por grupo durante el tiempo que duró el experimento. Los datos que se utilizaron se describen en la Tabla 8.

Tabla 8. Valores para el cálculo del consumo de NDGA

|  | LT50  | LT100 |
|--|-------|-------|
| Peso promedio, (P), kg                     | 29.56 | 30.82 |
| Consumo, (CMS), kg MS d <sup>-1</sup>      | 1.14  | 1.12  |
| <i>L. tridentata</i> en la dieta, (%LT), % | 5     | 10    |

Las fórmulas que se utilizaron fueron las siguientes:

$$L. tridentata \text{ (g)} = [(\text{CMS}) (\% \text{LT})] [1000]$$

$$\text{Consumo de NDGA (mg)} = (L. tridentata) (\text{Contenido de NDGA}) / \text{Peso promedio}$$

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos fueron analizados utilizando la prueba de ANOVA. Posteriormente, se utilizó la prueba de Tukey para identificar la diferencia estadística entre los grupos. El valor estadístico fue de  $P < 0.05$ . Los datos fueron analizados mediante el programa SAS (versión 9.0, 2002).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### *Especies reactivas de oxígeno (ROS)*

En la comparación de las medias de IFM, se observaron diferencias estadísticas ( $p < 0.05$ ) en las media de los grupos CON y LT100. Como se puede observar en la *Tabla 9*, el grupo LT100 mostró menor IFM (13.33) que el grupo CON (16.34), y por lo tanto, menor estrés oxidativo. El grupo LT50 comparado con el grupo CON y el grupo LT100, a pesar de mostrar valores diferentes, fueron estadísticamente iguales ( $p \geq 0.05$ ).

Tabla 9. Cuantificación intracelular de especies reactivas de oxígeno en células mononucleares de corderos alimentados con dietas con 0 % (CON), 5 % (LT50) y 10 % (LT100) de *L. tridentata*

|     | CON                | LT50                | LT100              | EEM  | Prob |
|-----|--------------------|---------------------|--------------------|------|------|
| IFM | 16.34 <sup>a</sup> | 13.75 <sup>ab</sup> | 13.33 <sup>b</sup> | 0.67 | 0.02 |

IFM= Intensidad media de fluorescencia. EEM= Error estándar de la media. Valores con la misma literal son estadísticamente iguales ( $p>0.05$ )

En la *Figura 3* se muestran histogramas de IFM de cada tratamiento. Estos valores representan la fluorescencia de un individuo de cada grupo. En cada histograma se utilizó un marcador para definir el alcance de los eventos negativos para la tinción (histograma en color azul), y por lo tanto, con este mismo criterio se delimitó la zona de eventos positivos para la tinción (histograma en color rojo). En estos histogramas, se observan valores de IFM de 18.3, 14.5 y 11.6 para las preparaciones celulares correspondientes a los tratamientos CON, LT50 y LT100, respectivamente.

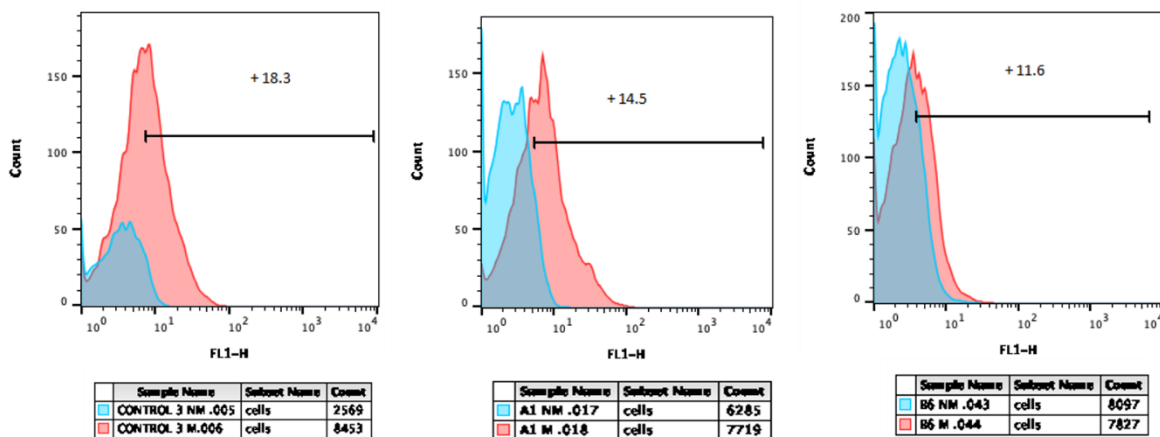


Figura 3. Histogramas de cuantificación intracelular de ROS por citometría de flujo en células mononucleares de corderos alimentados con dietas con 0% (CON), 5% (LT50) y 10 % (LT100) de *L. tridentata*.

El estrés oxidativo que presentaron los 3 grupos podría deberse a condiciones ambientales y la alimentación. Los pequeños rumiantes bajo estrés ambiental, muestran una mayor producción de especies reactivas de oxígeno y una

disminución de las defensas antioxidantes, medidas como potencial antioxidante biológico (Gupta *et al.*, 2013; Chauahan *et al.*, 2014). En concordancia con lo anterior, en un estudio realizado por Caroprese y colaboradores (2019), observaron que las condiciones ambientales como la temperatura, humedad o el manejo zootécnico pueden causar un desequilibrio en las reacciones de óxido - reducción en ovejas.

A pesar de que todos los animales que participaron en este estudio estuvieron bajo las mismas condiciones ambientales, los animales alimentados con gobernadora mostraron menores valores de IFM. Por su parte, Chauahan y colaboradores (2014), determinaron que mediante la suplementación de antioxidantes en la dieta, se pueden revertir algunos de los efectos negativos del estrés por calor en el estado oxidativo y mejorar algunas de las respuestas fisiológicas al estrés por calor en las ovejas.

Aunado a esto, se han aislado compuestos fenólicos de plantas con actividades antioxidantes como la gobernadora, lo que puede reducir los niveles de ROS y modulan la expresión de enzimas antioxidantes en diferentes tipos de células (Mata-Campuzano, *et al.*, 2012; Nafees, *et al.*, 2015). Esto significa que, debido a sus propiedades antioxidantes, el 10% de gobernadora que se incluyó en las dietas del grupo LT100 podría coadyuvar a conservar la homeostasis de óxido-reducción y disminuir el estrés oxidativo de los animales que la consumieron.

### Ensayo cometa

En la *Tabla 10* se pueden observar que los resultados de los promedios del OTM indican diferencias ( $p < 0.05$ ) entre los grupos CON y TL100, observándose un OTM mayor en el grupo CON (*Figura 4*).

Tabla 10. Ensayo cometa en células mononucleares de corderos alimentados con dietas con 0 % (CON), 5 % (LT50) y 10 % (LT100) de *L. tridentata*

|                    | CON                | LT50                | LT100              | EEM  | Prob  |
|--------------------|--------------------|---------------------|--------------------|------|-------|
| OTM, $\mu\text{m}$ | 24.94 <sup>a</sup> | 17.37 <sup>ab</sup> | 13.03 <sup>b</sup> | 1.99 | <0.00 |
| TL, $\mu\text{m}$  | 53.01 <sup>a</sup> | 42.33 <sup>ab</sup> | 33.85 <sup>b</sup> | 3.37 | <0.00 |
| Tail DNA, %        | 62.35 <sup>a</sup> | 46.20 <sup>b</sup>  | 38.72 <sup>b</sup> | 3.70 | <0.00 |

EEM= Error estándar de la media. Valores con la misma literal son estadísticamente iguales ( $p > 0.05$ )

La comparación de los grupos CON - LT50 y LT50 - LT100, no mostraron diferencias significativas ( $p \geq 0.05$ ).

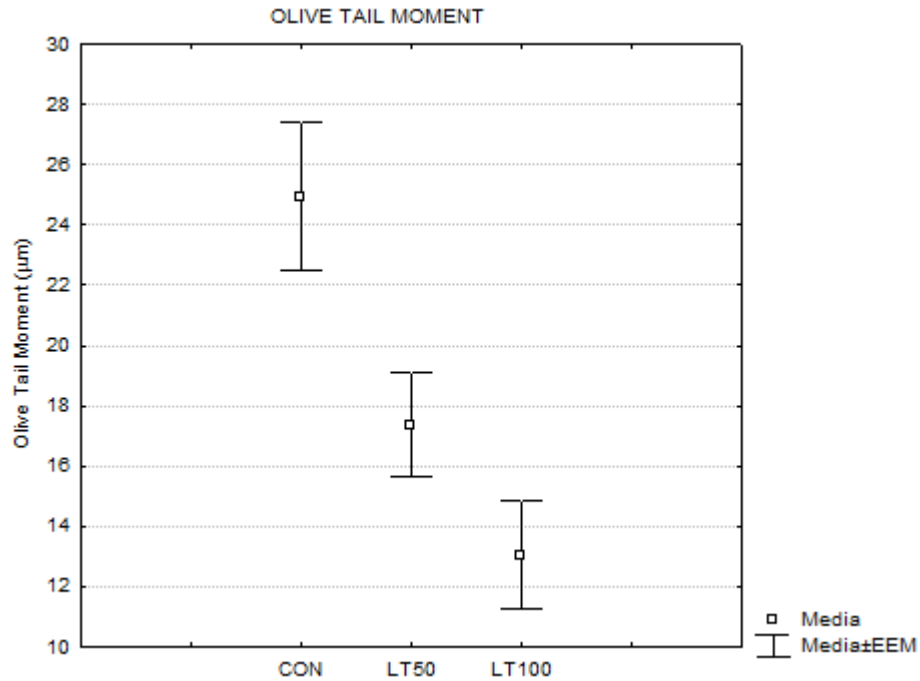


Figura 4. Daño al ADN (OTM)

En cuanto el TL los resultados tuvieron la misma tendencia que el OTM (*Figura 5*). Las diferencias estadísticas se observaron en los grupos CON – LT100. El grupo LT100 tuvo la longitud más baja ( $p < 0.05$ ) de cola con  $33.85 \mu\text{m}$  mientras que el grupo CON tuvo una longitud en promedio de  $53.01 \mu\text{m}$ .

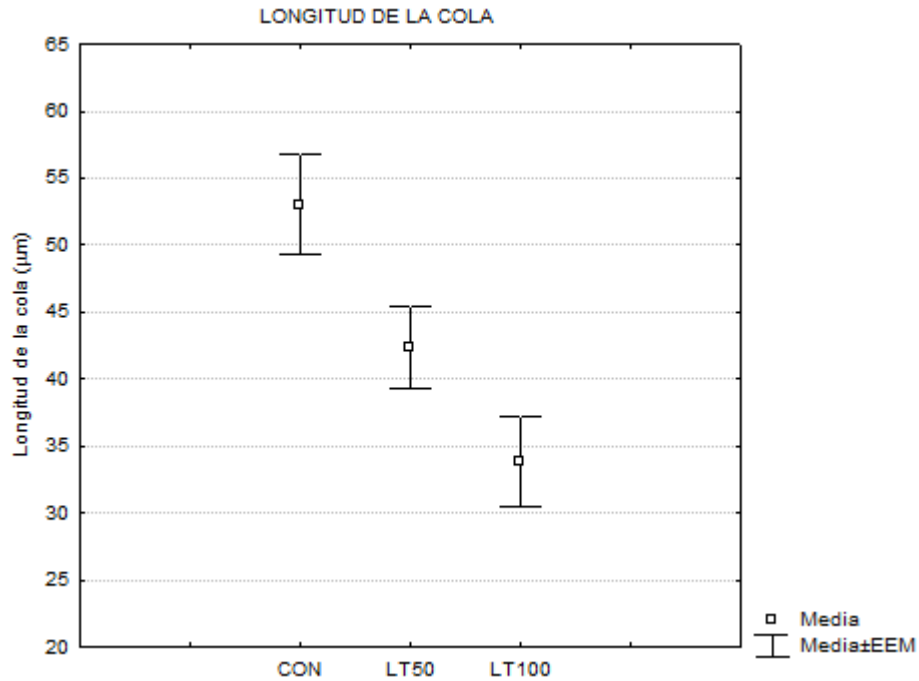


Figura 5. Daño al ADN (Longitud de cola)

Los resultados de Tail% DNA muestran una diferencia ( $p < 0.05$ ) entre las células del grupo control y los grupos experimentales (*Figura 6*). Los porcentajes más bajos del ADN en la cola de los cometas se observaron en los grupos LT50 y LT100 con 38.72 y 46.20 % respectivamente, mientras que el grupo CON tuvo 62.35%.

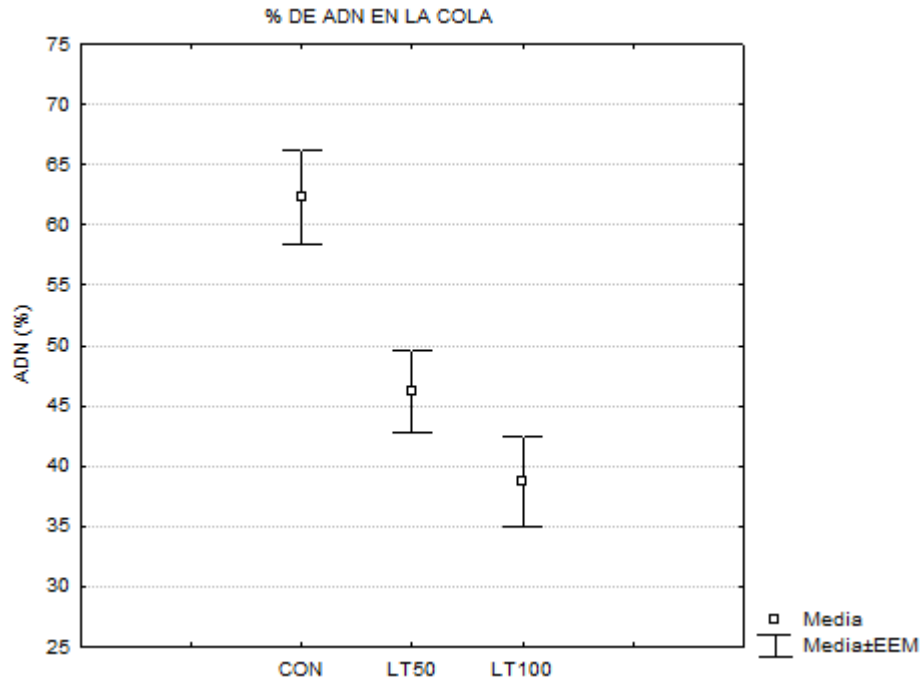


Figura 6. Daño al ADN (% de ADN en la cola)

En las imágenes de la *Figura 7* se observa la dimensión del daño al ADN en las células mononucleares de cada tratamiento.



Figura 7. Daño al ADN en células mononucleares de corderos (200X)



Estos resultados indican que los corderos del grupo LT100 presentaron menos daño en el ADN de las células mononucleares que las de los corderos alimentados con una dieta elaborada con forraje tradicional.

Se han utilizado diferentes técnicas en borregos para determinar el daño al ADN, tales como el Ensayo de Intercambio de Cromátidas Hermanas (SCE) y el Ensayo de Túnel (Dianovský y Šiviková, 2001; Gouveia, *et al.*, 2019). Sin embargo, debido a que el ensayo cometa es una técnica relativamente rápida, simple y sensible para el análisis del daño del ADN en todos los tipos de células, ha sido frecuentemente utilizada en estudios de genotoxicidad (Cemeli, *et al.*, 2009).

En estudios similares, se ha utilizado el ensayo cometa para identificar la integridad del ADN de linfocitos de borregos expuestos a extractos de *Tribulus terrestris*, una planta que pertenece a la misma familia de la gobernadora (Abdelrazek, *et al.*, 2018). Con algunas modificaciones, el ensayo cometa ha sido utilizado en células mononucleares de equinos para determinar el daño al ADN producido por la presencia de protozoarios intraeritrocitarios (Radakovic, *et al.*, 2016).

Desde hace 2 décadas, se han realizado estudios en los que se ha evaluado la capacidad del NDGA para inhibir el daño al ADN a través del ensayo Cometa. En un estudio realizado por Kelly y colaboradores (2001), se observó que el NDGA redujo la fragmentación de fibras de ADN en cultivos celulares. A pesar de que el ensayo cometa ha sido de los más utilizados, no se han reportado estudios en células de borrego en donde se evalúe la capacidad antioxidante de la gobernadora.

*Cálculo de la concentración de NDGA en dietas.*

La cantidad aproximada de NDGA que los animales alimentados con dietas con *L. tridentata* consumieron se describen en la *Tabla 11*. De acuerdo a la literatura, no se cuenta con datos que indiquen la DL<sub>50</sub> en corderos. La DL<sub>50</sub> más aproximada para contrastar la información obtenida en esta investigación es de 4000 mg/ kg en roedores y 5500 mg/ kg en ratas por vía oral, descrita en distintas investigaciones (Gisvold, 1948; Grice, *et al.*, 1968; Goodman, *et al.*, 1970).

Tabla 11. Rangos de consumos de NDGA de corderos alimentados con dietas con *L. tridentata*

| NDGA mg / kg de peso corporal | LT50   | LT100  |
|-------------------------------|--------|--------|
| Consumo mínimo                | 30.85  | 58.14  |
| Consumo máximo                | 289.24 | 545.10 |

EL NDGA que los animales pudieron haber consumido en ambas dietas fue menor que la que se requiere para causar la muerte de algunos roedores. El grupo LT50 consumió entre 14 y 130 veces menos cantidad de NDGA que la DL<sub>50</sub> de ratones y entre 19 y 178 veces menos cantidad en el caso de ratas. Para el grupo LT100, los animales consumieron entre 7 y 69 veces menos cantidad de NDGA que DL<sub>50</sub> de ratones y entre 10 y 95 veces menos cantidad en el caso de ratas.

Es ampliamente aceptado que los antioxidantes, ya sean endógenos o de la dieta, juegan un papel clave en la preservación de la salud. Como se mencionó anteriormente, son capaces de reducir las especies radicales generadas en

situaciones de estrés oxidativo, desencadenadas ya sea por patologías o xenobióticos, y protegen la integridad del ADN de los genotóxicos (Cemeli, *et al.*, 2009).

Por otro lado, también se mencionó que las antioxidantes pueden convertirse en prooxidantes si son utilizados en cantidades excesivas y por tiempos prolongados. Esto puede explicar los efectos adversos observados en los diferentes modelos animales en los que se ha evaluado la toxicidad de la *L. tridentata* (Grice *et al.*, 1968; Goodman *et al.*, 1970; Evan y Gardner, 1979; Gardner *et al.*, 1986; Gardner *et al.*, 1987; De Smet, 1993; Sheihk *et al.*, 1997; Lambert *et al.*, 2004). En este estudio se comprobó que las proporciones de gobernadora que se utilizaron en las dietas para corderos, podrían tener un efecto antioxidante al reducir la generación de ROS e inhibir el daño al ADN sin que la salud de los animales se vea comprometida.

## CONCLUSIONES

De acuerdo con las pruebas para la determinación de ROS, el uso de *L. tridentata* como ingrediente en las dietas para corderos, no mostraron daños degenerativos en las células sanguíneas, por el contrario, se observó una reducción en el estrés oxidativo en comparación con los animales que no la consumieron. En concordancia con estos datos, los resultados del ensayo cometa sugieren que el uso de *L. tridentata* en las dosis utilizadas en el estudio, disminuyó el daño al ADN en las células de los animales expuestos comparados con las células del grupo control.

Esto podría indicar que las dietas para animales con *L. tridentata* en las dosis señaladas, favorecen los mecanismos protectores a nivel celular y podrían ser seguras para los corderos de engorda en un sistema tradicional de producción, sin que represente un riesgo para la salud.

## REFERENCIAS

- Abdelrazek, H. M. A., Elgawish, R. A., Ahmed, E. A., & Bahr, H. I. (2018). In vitro and In vivo Effects of Tribulus terrestris on Some Immunological Parameters, Lymphocyte Proliferation, and DNA Integrity in Sheep. *Small Ruminant Research*. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2018.10.014>
- Ahmed, M. I., Fayed, S. T., Hossein, H., & Tash, F. M. (1999). Lipid Peroxidation and Antioxidant Status in Human Cervical Carcinoma. *Dis Markers*, 15(4), 283–291.
- Arteaga, S., Andrade-Cetto, A., & Cárdenas, R. (2005). *Larrea tridentata* (Creosote bush), an abundant plant of Mexican and US-American deserts and its metabolite nordihydroguaiaretic acid. *J Ethnopharmacol*, 98(3), 231–239.
- Barceloux, D. G. (2008) Chapter 57 Chaparral: [*Larrea tridentata* (Sesse & Moc. ex DC) Vail]. En *Medical Toxicology of Natural Substances. Part 3 Medicinal herbs and essential oils* (pp. 429-433). Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, Inc.
- Bermond, P. (1990). Biological Effects of Food Antioxidants. En B. J. F. Hudson (Ed.), *Food Antioxidants*. (pp. 193-251). New York: Elsevier Applied Science.

- Blankenberg, S., Rupprecht, H. J., Bickel, C., Torzewski, M., Hafner, G., Tiret, L., Smieja, M., Cambien, F., Meyer, J., & Lackner, K. J. (2003). Glutathione Peroxidase 1 Activity and Cardiovascular Events in Patients with Coronary Artery Disease. *New Engl J Med*, 349(17), 1605–1613.
- Bors, W., & Michel, C. (1999). Antioxidant capacity of flavanols and gallate esters: pulse radiolysis studies. *Free Radical Bio Med*, 27(11-12), 1413–1426.
- Carocho M. & Ferreira I. C. F. R. (2013). A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food Chem Toxicol*, 51:15-25.
- Caroprese, M., Ciliberti, M. G., Albenzio, M., Marino, R., Santillo, A., & Sevi, A. (2019). Role of antioxidant molecules in milk of sheep. *Small Ruminant Research*, 180(2019), 79–85.
- Cemeli, E., Baumgartner, A., & Anderson, D. (2009). Antioxidants and the Comet assay. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 681(1), 51–67.
- Chauahan, S. S., Celi, P., Leury, B. J., Clarke, I. J., & Dunshea, F. R. (2014). Dietary antioxidant at supranutritional doses improve oxidative status and reduce the negative effects of heat stress in sheep. *J Anim Sci*, 92, 3364–3374.
- Chen, X., Zhong, Z., Xu, Z., Chen, L., & Wang, Y. (2010). 2',7'-Dichlorodihydrofluorescein as a fluorescent probe for reactive oxygen

species measurement: Forty years of application and controversy. *Free Radic Res*, 44(6), 587–604.

De Smet, P.A.G.M. (1993). *Larrea tridentata*. En P.A.G.M. De Smet, K. Keller, R. Hiinsel, R.F. Chandler (Eds). *Adverse effects of herbal drugs Vol. 2* (pp. 231-240). Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag.

Delmas, D., Aires, V., Dutartre, P., Mazue, F., Ghiringhelli, F., & Latruffe, N. (2011). Transport, stability, and biological activity of resveratrol. *Ann N Y Acad Sci*, 1215, 48-59.

Dianovský, J., & Šiviková, K. (2001). CCL4 induced genotoxicity and protective effect of antioxidants after in vivo administration to sheep. *Acta Vet Brno*, 70, 467–472.

Dreher, D., & Junod, A. F. (1995). Differential effects of superoxide, hydrogen peroxide, and hydroxyl radical on intracellular calcium in human endothelial cells. *J Cell Physiol*, 162(1), 147–153.

Dreher, D., & Junod, A. F. (1996). Role of oxygen free radicals in cancer development. *Eur J Canc*, 32(1), 30–38.

Duisberg, P. C., Shires, L. B., & Botkin, C. W. (1945). Determination of nordihydroguaiaretic acid in the leaf of *Larrea divaricata* (creosote bush). *Anal Chem*, 21, 1393-1396.

Fischer, S. (1997). Prostaglandins and cancer. *Front Biosci*, 2, 1-7.

- Gardner, K. D., Evan, A. P., & Reed, W. P. (1986). Accelerated renal cyst development in deconditioned germ-free rats. *Kidney Int*, 29(6), 1116-1123.
- Gisvold, O. (1948). A preliminary survey of the occurrence of nordihydroguaiaretic acid in *Larrea divaricata*. *J Am Pharm Assoc Sci*, 37,194-196.
- Gisvold, O., & Thaker, E. (1974) Lignans from *Larrea divaricata*. *J Pharm Sci*, 63, 1905–1907.
- Gonzalez-Coloma, A., Wisdom, C., & Rundel, P. (1988). Ozone impact on the antioxidant nordihydroguaiaretic acid content in the external leaf resin of *Larrea tridentata*. *Biochem Syst Ecol*, 16, 59–64.
- González-Mille, D.J., Espinosa-Reyes, G., Ilizaliturri, C.A., Mejía-Saavedra, J., Jasso-Pineda, Y., & Díaz-Barriga, F. (2012). Ensayo cometa en fauna terrestre. 107-125. En: M. Cuevas, G. Espinosa, C. Ilizaliturri & A. Mendoza (Eds). *Métodos ecotoxicológicos para la evaluación de suelos contaminados con hidrocarburos* (pp. 107-125). México, D.F., México. Instituto Nacional de Ecología. Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales.
- Goodman, T., Grice, H., Becking, G., & Salem, F. (1970). A cystic nephropathy induced by nordihydroguaiaretic acid in the rat. *Lab Investigat*, 23(1), 93–107.
- Gouveia, B. B., Barberino, R. S., Menezes, V. G., Macedo, T. J. S., Cavalcante, A. Y. P., Gonçalves, R. J. S., Almeida, J. R. G. S., Matos, M. H. T. (2019). DNA damage and primordial follicle activation after in vitro culture of sheep ovarian

- cortex in *Morus nigra* leaf extract. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 39(1), 85–92.
- Grice, H. C., Becking, G., & Goodman, T. (1968). Toxic properties of nordihydroguaiaretic acid. *Food Cosmet. Toxicol*, 6(2), 155–161.
- Gupta, M., Kumar, S., Dangi, S. S., Jangir, B. L. (2013). Physiological, biochemical and molecular responses to thermal stress in goats. *Int J Livest Res*, 3, 27–38.
- Guyton, K. Z., & Kensler, T. W. (1993). Oxidative mechanisms in carcinogenesis. *Brit Med Bull*, 49(3), 523–544.
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (2007). *Free Radicals in biology and medicine*. (4th Edition). U.K.: Oxford University Press.
- Jerlich, A., Pitt, A. R., Schaur, R. J., & Spickett, C. M. (2000). Pathways of phospholipid oxidation by HOCl in human LDL detected by LC-MS. *Free Radical Bio Med*, 28(5), 673–682.
- Kagan, V. E., Shvedova, A. A., & Novikov K. N. (1978). Participation of phospholipases in the repair of photoreceptor membranes subjected to peroxidation. *Biofizika*, 23(2), 279–84.
- Kelly, M., Xu, J., Alexander, K., & Loo, G. (2001). Disparate effects of similar phenolic phytochemicals as inhibitors of oxidative damage to cellular DNA. *Mutat Res-DNA Repair*, 485(4): 309–318.



- Lelkes, P. I., Hahn, K. L., Sukovich, D. A., Karniol, S., & Schmidt, D. H. (1998). On the possible role of reactive oxygen species in angiogenesis. *Adv Exp Med Biol*, 454, 295-310.
- Lira-Saldivar R. H. (2003). Estado Actual del Conocimiento sobre las Propiedades Biocidas de la Gobernadora *Larrea tridentata* (D.C.) Coville. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 21(2), 214-222.
- Lodge-lvey, S. L., Petersen, J., & Browne-Silva, J. (2012). Effects of nordihydroguaiaretic acid on in vitro fermentation profiles of rumen bacteria. *J Anim Sci*, 90, 4118-4125.
- Maki, A., Berezesky, I. K., Fargnoli, J., Holbrook, N. J., & Trump, B. F. (1992). Role of  $[Ca^{2+}]_i$  in induction of c-fos, c-jun, and c-myc mRNA in rat PTE after oxidative stress. *FASEB*, 6(3), 919–924.
- Martins, S., Aguilar, C., Teixeira, J., & Mussatto, S. (2012). Bioactive compounds (phytoestrogens) recovery from *Larrea tridentata* leaves by solvents extraction. *Sep Purif Technol*, 88, 163–167.
- Mata-Campuzano, M., Álvarez-Rodríguez, M., Del Olmo, E., Fernández-Santos, M. R., Garde, J. J., & Martínez-Pastor, F. (2012). Quality, oxidative markers and DNA damage (DNA) fragmentation of red deer thawed spermatozoa after incubation at 37 °C in presence of several antioxidants. *Theriogenology*, 78(5), 1005–1019.

- Merriam, C. H. (1893). Report of desert trees and shrubs. En *North American Fauna* No. 7 (pp. 285-343). Washington: Government Printing Office.
- Nafees, S., Rashid, S., Ali, N., Hasan, S. K., & Sultana, S. (2015). Rutin ameliorates cyclophosphamide induced oxidative stress and inflammation in Wistar rats: Role of NFκB/MAPK pathway. *Chemico-Biological Interactions*, 231, 98–107.
- Orta-García, S.T., Plascencia-Villa, G., Ochoa-Martínez, A.C., Ruiz-Vera, T., Pérez-Vázquez, F.J., Velázquez-Salazar, J.J., Yacamán, M.J., Navarro-Contreras, H.R., & Pérez-Maldonado, I.N. (2015). Analysis of cytotoxic effects of silver nanoclusters on human peripheral blood mononuclear cells in vitro. *J Appl Toxicol*, 35, 1189–1199.
- Pérez-Maldonado, I.N., Herrera, C., Batres, L.E., González-Amaro, R., Díaz-Barriga, F., & Yáñez, L. (2005). DDT-induced oxidative damage in human blood mononuclear cells. *Environ Res*, 98, 177–184.
- Piperakis, S. M. (2009) Comet Assay: a brief history. *Cell Biol Toxicol*, 25(1), 1–3.
- Radakovic, M., Davitkov, D., Borozan, S., Stojanovic, S., Stevanovic, J., Krstic, V., & Stanimirovic, Z. (2016). Oxidative stress and DNA damage in horses naturally infected with *Theileria equi*. *The Veterinary Journal*, 217, 112–118.
- Rastogi, R. P., Singh, S. P., Häder, D. P., & Sinha, R. P. (2010). Detection of reactive oxygen species (ROS) by the oxidant-sensing probe 2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate in the cyanobacterium *Anabaena variabilis* PCC 7937. *Biochem Biophys Res Commun*, 397(2010), 603–607.

- Robison, T. W., Sevanian, A., & Forman, H. J. (1990). Inhibition of arachidonic acid release by nordihydroguaiaretic acid and its antioxidant action in rat alveolar macrophages and Chinese hamster lung fibroblasts. *Toxicol Appl Pharm*, 105(1), 113–122.
- Rzedowski, J. (2006). Capítulo 15 Matorral Xerófito. En *Vegetación de México* (pp. 247-273). México: 1ra Edición digital, Comisión Nacional para el conocimiento y uso de la Biodiversidad.
- Sáez, G. T. (2005). Biopatología de los radicales libres. En A. M. Pascual (Ed.). *Mecanismos moleculares y neuroendocrinos del balance energético: Patologías*, (pp. 201-224). España: Real Academia de Farmacia de Madrid.
- Sahu, S. C., Ruggles, D. I., & O'Donnell, M. W. (2006). Prooxidant activity and toxicity of nordihydroguaiaretic acid in clone-9 rat hepatocyte cultures. *Food and Chemical Toxicology*, 44(10), 1751–1757.
- Sevanian, A., & Kim, E. (1985). Phospholipase A2 dependent release of fatty acids from peroxidized membranes. *J Free Radicals Biol Med*, 1(4), 263-271.
- Sevanian, A., Wratten, M. L., McLeod, L. L., & Kim, E. (1988). Lipid peroxidation and phospholipase A2 activity in liposomes composed of unsaturated phospholipids: a structural basis for enzyme activation *Biochim Biophys Acta*, 961(3), 316-327.

- Shaikh, N. A., & Downar, E. (1981). Time course of changes in porcine myocardial phospholipid levels during ischemia. A reassessment of the lysolipid hypothesis. *Circ Res*, 49(2), 316–325.
- Sies, H. (1986). Biochemistry of Oxidative Stress. *Angew Chem Int Edit*, 25(12), 1058–1071.
- Singh, N. P., McCoy, M. T., Tice, R. R., & Schneider, E. L. (1988). A single technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp Cell Res* 175, 184–191.
- Tyler, V. E. (1987). *The New Honest Herbal. A sensible guide to herbs and related remedies.* (2<sup>a</sup> Ed.) Philadelphia: George F. Stickley Company.
- Valentine, J. L., McKenzie, L., & Kovarik, F. (1984). Gas chromatographic determination of nordihydroguaiaretic acid in *Larrea divaricata*. *Anal Lett*, 17(14), 1617–1626.
- Venereo, J. R. (2002). Daño oxidativo, radicales libres y anti-oxidantes. *Rev Cubana Med Milit*, 31(2), 126-133.
- Waller, C. W., & Gisvold, O. (1945). A phytochemical Investigation of *Larrea Divaricata* Cav.\*. *J Am Pharm Assoc Sci*, 34(3), 78–81.
- Wellendorf, M. (1964). Nordihydroguajaretsyre (N.D.G.A.) II. Stamplantens indholdsstoffer. *Dan Tidsskr Farm*, 38, 104-108.

Wilson, D. E., DiGianfilippo, A., Ondrey, F. G., Anderson, K. M., & Harris, J. E. (1989). Effect of nordihydroguaiaretic acid on cultured rat and human glioma cell proliferation. *J Neurosurg*, 71(4), 551-557.

Wu, D., & Yotnda, P. (2011). Production and detection of reactive oxygen species (ROS) in cancers. *J Vis Exp*, 57, e3357.

Zorrilla-García A. E., Eirez-Izquierdo, M., & Izquierdo-Exposito, M. (2004). Papel de los radicales libres sobre el ADN: carcinogénesis y terapia antioxidante. *Rev Cubana Invest Bioméd*, 23(1), 51-57.

## CONCLUSIONES GENERALES

La *Larrea tridentata* es una planta con cualidades antioxidantes que, a pesar de su amplia distribución y su alto potencial de aprovechamiento, ha sido poco estudiada en el ámbito pecuario. El desconocimiento general en la población en cuanto a su toxicidad y la falta de evidencia científica que demuestren sus bondades en el uso tradicional, han fortalecido los mitos y creencias de las personas en general acerca del peligro del uso de esta planta y de esta manera, se ha limitado su explotación.

Los resultados de este estudio han demostrado que mediante el uso de la *L. tridentata* como sustituto de un forraje tradicional como la paja de sorgo en dietas en etapa de finalización para corderos, se mantienen los parámetros en cuanto al rendimiento de la canal y sus características, a excepción de la longitud de la canal y la pierna. Sin embargo, a pesar de que se observaron canales más compactas con el uso de la *L. tridentata*, el desempeño productivo de los animales no se vio alterado de manera negativa, por el contrario, se disminuyó el consumo de alimento y por ende, se mejoró la conversión de alimento. Esto proporciona una ventaja a los productores en una explotación pecuaria, al disminuir la cantidad de alimento que se requiere para obtener la misma producción, lo que se traduce en una disminución en los costos y una mejora en la rentabilidad.

En cuanto a la salud animal, este estudio demostró que mediante el consumo de dietas con gobernadora en una proporción moderada, se pueden aprovechar las cualidades antioxidantes de la *L. tridentata* en comparación con el forraje tradicional,

al disminuir los índices de estrés oxidativo y de daño al genoma de los corderos. Además de esto, con el consumo oral y a estas dosis, la *L. tridentata* puede disminuir la presencia de parásitos intestinales en animales sin que la flora ruminal no patógena se vea afectada.

## ANEXO 1



Revista Chapingo  
Serie Zonas Áridas

ASUNTO: *Carta de Aceptación*

23 de Octubre de 2019

**DR. JUAN MANUEL PINOS RODRIGUEZ**

**AUTOR**

**PRESENTE**

Por medio del presente me permito comunicar que la contribución clave 105154 RRCHSZA 2019.09.023R1: "BIOMASA DE GOBERNADORA (*Larrea tridentata*) COMO FORRAJE PARA BORREGOS", cuyos coautores son: Israel Hernández, Juan C. García-López, Guillermo Espinosa, Héctor A. Lee, Daniel Faz; ha sido **Aceptado** para publicarse en el Volumen XVIII, número 2 de nuestra Revista (del presente semestre).

Le agradecemos su consideración para publicar en esta Revista y le invitamos a que continúe participando con nosotros con nuevas contribuciones.

Sin otro particular, reciba un cordial saludo.

ATENTAMENTE

**Dr. Ricardo D. Valdéz Cepeda**

Editor Principal de la Revista  
Chapingo Serie Zonas Áridas

Ccp.- Archivo Revista Chapingo Serie Zonas Áridas  
RVC\* rse\*

Universidad Autónoma Chapingo  
Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas  
Carretera Gómez Palacio – Cd. Juárez Km 40, Bermejillo, Dgo. C.P. 35230  
01(872)7760160 | 01(872)7760190 Ext. 1028  
rchsza@chapingo.uruza.edu.mx