

Artículo Original

Evaluación *In vitro* del potencial antihelmíntico de extractos de *Plantago major* y semillas de *Carica papaya*, usando como modelo experimental *Caenorhabditis elegans*

In vitro evaluation of the anthelmintic potential of the *Plantago major* and *Carica papaya* seeds extracts using *C. elegans* as experimental model

Erick M. García M.¹, Víctor H. González C.¹, Gino C. Atariguana E.¹, Thayana del C. Núñez Q.¹, Fredis F. Pesántez¹, Katherine González²

¹Universidad Técnica de Machala (Machala - Prov. De El Oro - Ecuador).

²Hospital del Seguro Social, Machala (Machala - Prov. De El Oro - Ecuador).

Resumen

En este trabajo se evaluó el potencial antihelmíntico de los extractos acuosos e hidroalcohólicos de dos plantas empleadas en medicina tradicional como antiparasitarios, *Carica papaya* y *Plantago major*, comúnmente conocidas como papaya y llantén, respectivamente. Los resultados obtenidos indican que los extractos de ambas plantas presentaron actividad antihelmíntica al causar mortalidad de *C. elegans*, en diferentes concentraciones. Con base en la determinación del CL_{50} , el extracto hidroalcohólico de hojas de *P. major* (2.663 mg/mL indujo una mortalidad 40,5% mayor que la del extracto acuoso (4,420 mg/mL; mientras que en *C. papaya* el extracto acuoso (2,012 mg/mL provocó una mortalidad 40% mayor que el extracto hidroalcohólico (3,350 mg/mL. Los resultados son discutidos en función del potencial antihelmíntico de cada extracto.

Palabras clave: *Caenorhabditis elegans*; bioindicador; antihelmínticos; *Carica papaya*; *Plantago major*.

Abstract

In this work the anthelmintic potential of the aqueous and hydroalcoholic extracts of two plants used in traditional medicine as antiparasitic, *Carica papaya* and *Plantago major*, commonly known as papaya and plantain, respectively, was evaluated. The results obtained showed that the extracts of both plants possess anthelmintic activity causing mortality of *C. elegans*, in different concentrations. Based on the determination of LC_{50} , the hydroalcoholic extract of *P. major* leaves (2,663 mg / ml) induced a mortality 40.5% higher than that of the aqueous extract (4,420 mg / ml); whereas in *C. papaya* the aqueous extract (2,012 mg / ml) caused a mortality 40% higher than the hydroalcoholic extract (3,350 mg / ml). The results are discussed based on the anthelmintic potential of each extract.

Keywords: *Caenorhabditis elegans*; bioindicator; anthelmintics; *Carica papaya*; *Plantago major*.

Correspondencia:

Nombre: Erick M. García

Correo: emgarcia_est@utmachala.edu.ec

Recibido: 04/04/2019

Acceptado: 06/11/2019

Citar como:

García, E., González, V., Atariguana, G., Núñez, T., Pesántez, F. y González, K. (2019). Evaluación *In vitro* del potencial antihelmíntico de extractos de *Plantago major* y semillas de *Carica papaya*, usando como modelo experimental *Caenorhabditis eegans*. *Ciencia e Investigación* 2019 22(2):9-16.

© Los autores. Este artículo es publicado por la Ciencia e Investigación de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons Atribución - No Comercia _Compartir Igual 4.0 Internacional. (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>) que permite el uso no comercial, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea debidamente citada.

INTRODUCCIÓN

Los nematodos, también conocidos como vermes, gusanos redondos o gusanos cilíndricos, están incluidos en uno de los *Phyla* más diversificados del reino Animalia, cuyos miembros parasitan tanto vertebrados como invertebrados y plantas, además existen numerosas especies de vida libre¹⁻³.

Los nematodos parásitos de vertebrados pueden alojarse en cualquier órgano, aunque la mayoría se encuentran asociados al tubo digestivo y glándulas anexas. Además son agentes causales de enfermedades de transmisión alimentaria como la triquinosis, filariasis, anisakiasis, anquilostomiasis, ascariasis, estrongiloidiasis, toxocariasis, entre otras^{4,5}.

El control de estos parásitos se realiza mediante el empleo de antihelmínticos sintéticos, pero su uso indiscriminado ha conducido al desarrollo de resistencia a estos fármacos^{4,6,7}. Además, se requiere limitar al mínimo indispensable los residuos de drogas en los productos animales, lo cual genera la necesidad de buscar estrategias alternativas que permitan reducir el uso de antihelmínticos sintéticos⁸⁻¹⁰.

Con base en el conocimiento ancestral sobre el uso medicinal de las plantas, muchas especies han sido aprovechadas en todo el mundo con fines terapéuticos. De hecho más del 30% de los medicamentos utilizados en la actualidad, derivan de especies vegetales¹¹.

Dos plantas comúnmente empleadas con base en el conocimiento ancestral para tratar parasitosis por helmintos son el llantén (*Plantago major*) y la papaya (*Carica papaya*). De hecho, un buen número de ensayos han sido realizados para determinar el potencial medicinal de las semillas de *C. papaya*^{12,13}, y de las hojas de especies de *Plantago*¹⁴⁻¹⁶. Este trabajo centra su atención en establecer las propiedades antihelmínticas, con base en un protocolo experimental, de extractos acuosos e hidroalcohólicos de *C. papaya* y *P. major*, a través de ensayos de mortalidad *in vitro* empleando a *C. elegans*, un nematodo de vida libre reconocido como modelo biológico que permite entender el mecanismo de acción de diferentes drogas derivadas de plantas y que además brinda la ventaja de que permite disponer, con facilidad, de grandes cantidades de este organismo bajo condiciones de laboratorio y manipularlo sin mayores complicaciones. Por otro lado, el hecho de que este organismo modelo comparte características fisiológicas y homología genética con otros nematodos parásitos, permite establecer comparaciones válidas y extrapolar resultados¹⁷.

MATERIALES Y MÉTODOS

Mantenimiento de *C. elegans*, cepa Bristol N2 BC20342

La cepa de *C. elegans* Bristol N2 BC20342, usada en este ensayo fue donada por la Dra. Lesly Tejada de la Universidad de Cartagena, Colombia. Con el fin de brindar las condiciones óptimas para la reproducción de los nematodos empleados, estos fueron mantenidos en un agar

selectivo que fue preparado siguiendo el protocolo descrito por el CGC (Centro Genético de *Caenorhabditis*)¹⁸⁻²¹. Para ello se preparó medio de crecimiento para nematodos (NGM) mezclando agar (8.5 g), peptona (1.25 g), cloruro de potasio (1.18 g) y cloruro de sodio (1.5 g), disueltos en agua miliQ (500 mL, esterilizada a 120°C durante 1 h, al que le fue adicionado colesterol (500 uL), MgSO₄ (500 uL) y CaCl₂ (500 uL). Este medio de cultivo fue vertido (17 mL en cajas Petri estériles y una vez solidificado, en su superficie fueron sembradas bacterias *Escherichia coli* OP50, que sirven como alimento para los nematodos.

Sincronización

A fin de sincronizar el cultivo de *C. elegans*, se aplicó el método de blanqueo²⁰. Para ello, una vez verificada la presencia de suficientes huevos en la superficie del medio de cultivo en las cajas Petri, se lavó con medio K (KCl, 0,23%; NaCl, 0,3% (m/v) y a colocar en tubos Falcon (de 10 ml) los huevos arrastrados en el proceso de lavado. Esta suspensión fue centrifugada a 2200 rpm en una centrifuga Dynac S51380, durante 2 min luego de los cuales, los tubos fueron colocados en hielo durante 5 min para prevenir la eclosión de los huevos. Se eliminó el sobrenadante y a cada tubo se adicionaron 10 mL de solución Bleach (hipoclorito de sodio + hidróxido de sodio), agitando suavemente durante 6 min. Los tubos con solución Bleach fueron centrifugados nuevamente a 2200 rpm, durante 5 min. Se eliminó el sobrenadante y se agregaron de 13 a 15 mL de medio K agitando suavemente. El lavado fue repetido 3 veces más y, finalmente, los huevos fueron colocados en cajas de cultivo celular con NGM. El objetivo de la sincronización es mantener únicamente los huevos, ya que éstos al estar expuestos a la solución Bleach no son afectados, debido a la capa que los protege, a diferencia de las formas adultas, los cuales sí mueren. Los huevecillos se desarrollan de manera uniforme alcanzando todos el mismo estadio larvario, al mismo tiempo con la finalidad evitar la fecundación.

Obtención de los extractos

El material vegetal empleado en este estudio fue identificado por la Dra. Thayana Núñez y las muestras de referencia fueron depositadas en el herbario del laboratorio de Fitoquímica de la Universidad Técnica de Machala, Ecuador.

La selección de las plantas para la realización de este estudio, se fundamentó básicamente en dos características: a) son plantas locales empleadas tradicionalmente en el tratamiento de parasitosis internas tanto en animales como en humanos, b) son abundantes y de fácil obtención.

Las hojas de *P. major* y las semillas de *C. papaya* fueron colectadas (en cantidades de 350 g y 770 g, respectivamente) en el cantón Pasaje de la provincia de El Oro (Ecuador), y trasladadas al Laboratorio de Toxicidad Ambiental de la Universidad Técnica de Machala, Ecuador, donde se procedió a realizar la selección, el lavado con agua potable y posterior desinfección con hipoclorito de sodio (5%) y agua destilada en una pro-

porción 50:50, durante 2 minutos y las hojas enjuagadas con agua destilada para eliminar los residuos del hipoclorito de sodio. El extracto seco las hojas de *P. major* se obtuvo a partir de 25 g de biomasa húmeda secada en estufa a 40°C durante 72 h, mientras que el extracto de semillas de papaya fue obtenido a partir de 30 g también secados a 40°C durante 7 días. Una vez deshidratado, el material fue triturado manualmente con la ayuda de un mortero de cerámica a fin de obtener la droga vegetal en forma de fino polvo. A partir del material en polvo fueron obtenidos los extractos acuosos (agua destilada) e hidroalcohólicos (etanol 96%: agua destilada; 70:30 v/v), en un volumen total de la solución de 100 mL mediante aplicación de ultrasonido con un sonicador Bath 5.7 L, 15337418 (Fisher Scientific, USA), durante 30 min y a temperatura ambiente. Para la obtención de los extractos secos¹⁷, las soluciones obtenidas fueron filtradas en un Kitasato adosado a una bomba al vacío para eliminar los residuos y el disolvente fue evaporado en un roto-evaporador Heidolph Hei-VAP Advantage ML (Fisher Scientific, USA).

Ensayo de Mortalidad (CL₅₀)

Para determinar el potencial antihelmíntico de los extractos se empleó como organismo bioindicador al nemátodo *Caenorhabditis elegans*.

La determinación de la concentración letal media (CL₅₀) para cada extracto, se realizó en placas de Elisa estériles de 96 pocillos, siguiendo la metodología estandarizada^{8,18}. A partir de cada extracto (acuoso e hidroalcohólico), fueron obtenidas diluciones (con agua miliQ) de 2, 4, 6 y 10 mg/mL. Como control se empleó medio K. El ensayo se realizó por triplicado y en cada unidad experimental (pocillo) fueron colocados 10 individuos, en estadio L4. El número de individuos fue escogido considerando que esa cantidad es suficiente para determinar el punto final entre dosis y permite minimizar el tiempo en el traspaso de los nematodos desde el medio de cultivo a los pocillos experimentales, además de facilitar la lectura de mortalidad²².

Los individuos fueron seleccionados uno a uno y traspasados a los pocillos contentivos de las diluciones. El traspaso se realizó con la ayuda de un filamento de platino adherido a una pipeta Pasteur, teniendo la precaución de esterilizarlo con la llama de un mechero e inmediatamente enfriarlo en agua destilada estéril para evitar contaminación²³.

Una vez expuestos los nematodos a cada concentración de los extractos se procedió a registrar la mortalidad a las 12, 24 y 36 h, usando un estereoscopio Labomed CZM6 4123100 (Labo América, USA).

Análisis estadístico

Con el propósito de establecer las curvas de mortalidad vs concentración para los extractos acuosos e hidroalcohólicos de las hojas de *P. major* y de las semillas de *C. papaya* y determinar los valores de las CL₅₀ con sus límites de confianza al 95% fue aplicado el método

Dosis-Respuesta PROBIT^{24,25}, con el empleo del software Microsoft Excel.

Para establecer la existencia de diferencias estadísticas en la mortalidad de los organismos entre tiempos de exposición, tipo de extracto (acuoso e hidroalcohólico) y dosis de los extractos, los datos fueron analizados mediante análisis de varianza multifactorial. Como prueba *a posteriori* para la comparación de diferencias entre grupos se empleó el test LSD de Fisher (Least Significant Difference). Todos los análisis fueron realizados previa verificación de la normalidad y homocedasticidad de los datos²⁶.

RESULTADOS

El análisis del porcentaje de mortalidad durante el lapso de exposición para cada uno de los extractos (acuoso e hidroalcohólico) reveló que a partir de las 24 h de exposición la mortalidad superó el 50% en las concentraciones más bajas por lo que no fue posible establecer las relaciones concentración vs respuesta para calcular la CL₅₀ en los lapsos de tiempo de 24 y 36 h, razón por la que se presentan los análisis sólo para 12 h de exposición.

En las Fig. 1 se muestran los modelos ajustados para las relaciones entre mortalidad y concentraciones de los extractos acuosos e hidroalcohólicos (Fig. 1a y 1b) de *P. major* y semillas de *C. papaya* (Fig 1c y d). Dentro de cada figura se indica la ecuación de regresión y el coeficiente de determinación. A partir de las regresiones obtenidas mediante análisis Probit se obtuvieron los valores CL₅₀ de cada extracto a las 12 h de exposición (Tabla 1).

En la Tabla 1 se muestran los resultados del análisis de varianza multifactorial (ANOVA) para establecer diferencias estadísticas entre efectos principales (origen del extracto y concentración) que reveló diferencias significativas entre el origen del extracto de hojas de *P. major* y semillas de *C. papaya* (P=0,0038) y la concentración del extracto (P<0,0001). El ANOVA reveló que no existe interacción entre factores (P>0,05). El test *a posteriori* permitió verificar dos grupos diferentes entre fuente de extracción (Tabla 2). A partir de esos datos es posible proponer que el efecto tóxico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *P. major* es más efectivo que el extracto acuoso y, a su vez, los extractos acuosos e hidroalcohólicos de semillas de *C. papaya* son similares, aunque el extracto acuoso de las semillas de *C. papaya* provocó mayor mortalidad para *C. elegans* que el extracto acuoso del *P. major*.

En Tabla 3 se indican los valores correspondientes a CL₅₀ y los respectivos intervalos de confianza al 95% para los extractos acuosos e hidroalcohólicos a las 12 h de exposición. El extracto hidroalcohólico de hojas de *P. major* provocó una mortalidad 40,5% mayor (menor CL₅₀ 2,663 mg/mL) que la del extracto acuoso (4,420 mg/mL) mientras que en *C. papaya* el extracto acuoso indujo una mortalidad 40% mayor (2,012 mg/mL) que la del extracto hidroalcohólico (3,350 mg/mL).

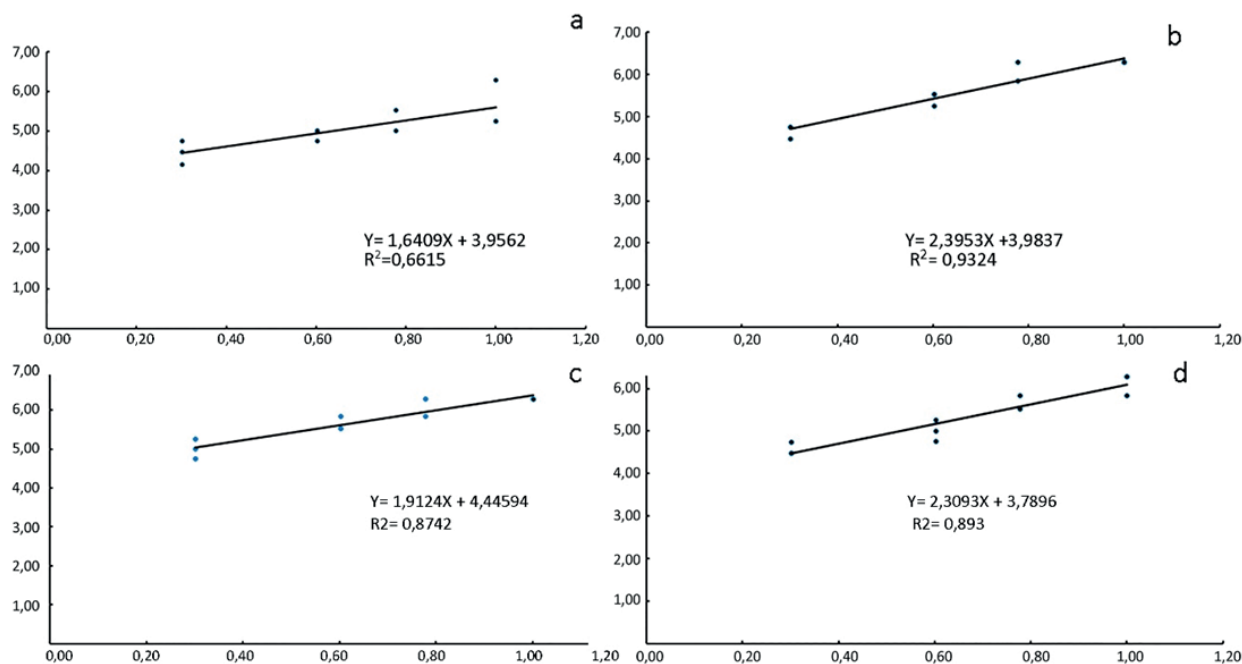


Figura 1. Relación entre mortalidad de *C. elegans* en unidades probits y el log10 de las concentraciones de los extractos acuosos de *Plantago major*(a) y de semillas de *C. papaya* (c) e hidroalcohólicos de *Plantago major*(b) y de semillas de *C. papaya* (d) luego de 12 horas de exposición

Tabla 1. Análisis de Varianza para N° de individuos muertos/10 *C. elegans* entre extracto de llantén y de semillas de papaya y entre concentraciones ensayadas a las 12 h de exposición.

Fuente	Suma de Cuadrados	GI	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Fuente	11,2667	1	11,2667	9,23	0,0038
B:Concentracion	537,733	4	134,433	110,19	0
INTERACCIONES					
AB	3,73333	4	0,933333	0,77	0,553
RESIDUOS	61	50	1,22		
TOTAL (CORREGIDO)	613,733	59			

Tabla 2. Pruebas de Múltiple Rangos para N° de individuos muertos/10 *C. elegans* entre extracto de llantén y de semillas de papaya y entre concentraciones ensayadas a las 12 h de exposición.

Método: 95,0 porcentaje LSD

Fuente	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
Llantén	30	4,63333	0,20166	X
Papaya	30	5,5	0,20166	X

Tabla 3. Valores de CL₅₀ e intervalos de confianza al 95 % para los extractos acuosos e hidroalcohólicos a las 12 h.

Fuente	Extracto Acuoso			Extracto Hidroalcohólico		
	CL ₅₀	inferior	superior	CL ₅₀	inferior	superior
<i>Plantago major</i>	4,420	3,146	6,211	2,663	2,068	3,429
<i>Carica papaya</i>	2,012	1,460	2,772	3,350	2,602	4,314

DISCUSIÓN

Diversos investigadores han reportado resultados que indican el potencial antihelmíntico de extractos vegetales^{8,27,28}. Por ejemplo, se ha encontrado que 25 mg/mL del extracto alcohólico de *Artemisia brevifolia* es efectivo para causar mortalidad de *Haemonchus contortus*²⁹. Similarmente, se ha indicado que, en comparación con el extracto acuoso, los extractos hidroalcohólicos de *Coriandrum sativum* y *Hedera helix* también poseen actividad contra el nematodo *Haemonchus contortus*^{30,31}.

Los datos obtenidos indican que concentraciones de 2,66 mg/mL de extracto hidroalcohólico de hojas de *P. major* y de 2,01 mg/mL de extracto acuoso de semillas de *C. papaya* fueron efectivas para producir actividad letal en el 50% de los nematodos sometidos a prueba, en apenas 12 h de exposición, mientras que a las 24 h la mortalidad se elevó a 90-100%. Comparados con los datos antes señalados para el extracto alcohólico de *Artemisia brevifolia*, los valores de mortalidad provocados por los extractos probados en esta investigación revelan una actividad superior. La diferencia de mortalidad entre los extractos de semillas de *C. papaya* en *C. elegans* podría explicarse como el resultado de la diferente polaridad que poseen ambos disolventes empleados en este estudio; ya que la papaína que le da el poder antihelmíntico a las semillas de *C. papaya* no es muy soluble en etanol, pero sí lo es en agua; mientras que el *P. major* es mucho más soluble en etanol, que en el agua, esto debido a que los taninos que le dan el poder antihelmíntico según los estudios³², se solubilizan mejor en etanol que en agua. *C. papaya* posee papaína, una enzima que acompaña a la quimiopapaína como componente enzimático capaz de disolver la queratina o quitina que cubre el cuerpo de los helmintos intestinales³³. El fruto maduro de *C. papaya* no contiene papaína, excepto en sus semillas que contienen un compuesto denominado carpasemina que también posee acción destructiva sobre distintos parásitos. La papaína es una cisteína-proteasa de la familia de las peptidasas C1 y consiste de una sola cadena polipeptídica con tres puentes disulfuro y un grupo sulfidrílico, indispensable para su actividad enzimática³⁴.

En el caso del *P. major*, al contrario de las semillas de *C. papaya*, el efecto del extracto hidroalcohólico produjo mayor mortalidad que el extracto acuoso. Estos resultados concuerdan con estudios previos en los cuales el extracto hidroalcohólico de la hoja machacada de *P. lanceolata* (una especie emparentada con *P. major*) posee efectos mayor actividad antihelmíntica que el extracto acuoso³⁵.

P. major sintetiza gran cantidad de taninos y saponinas que son metabolitos secundarios responsables de la capacidad antihelmíntica de esta planta³⁶. Los taninos actúan afectando a la movilidad, reproducción y hasta la nutrición en helmintos interrumpiendo el proceso normal de desarrollo. Además, se ha indicado que la unión de los taninos a la cutícula de la larva de los helmintos, compuesta por una alta cantidad de glicoproteínas, destruye esa estructura y produce la muerte del parásito^{29,37}.

Aun cuando se desconoce qué compuesto individual o complejo de compuestos de los extractos de las plantas utilizados en este estudio son los responsables de provocar la mortalidad en *C. elegans*, así como también los mecanismos y/o interacciones que producen su actividad, la capacidad detectada de provocar mortalidad en el organismo modelo empleado constituye una evidencia que permite proponer la posibilidad de desarrollar productos con acción antihelmíntica con base en esos extractos.

CONCLUSIONES

Tanto los extractos acuosos como los hidroalcohólicos de *P. major* y *C. papaya* resultaron poseer actividad antihelmíntica significativa frente a *C. elegans*. El extracto hidroalcohólico de hojas de *P. major* produjo una mortalidad en el nematodo empleado en este ensayo, 40,5% mayor que la del extracto acuoso, mientras que el extracto acuoso de *C. papaya* fue 40% mayor que el extracto hidroalcohólico. Las concentraciones más efectivas fueron las de 2,663 mg/mL de extracto hidroalcohólico de hojas de *P. major* y 2,012 mg/mL de extracto acuoso de semillas de *C. papaya* que produjeron una actividad letal en *C. elegans* en apenas 12 h de exposición y produjeron 90-100% de mortalidad a las 24 h, mientras que el extracto acuoso de hojas de *P. major* y el extracto hidroalcohólico de semillas de *C. papaya* para producir una actividad letal en *C. elegans* requirieron mayores concentraciones (4,420 mg/mL y 3.350 mg/mL respectivamente).

Aunque es necesario realizar estudios del efecto antihelmíntico *in vivo* empleando parásitos en animales experimentales, los resultados aquí expuestos conducen a concluir que los extractos aquí probados, poseen actividad nematocida, ya que las concentraciones requeridas para alcanzar efectos letales medios son muchos menores que las señaladas para extractos de otros vegetales y abre una línea de investigación promisoriosa para dar continuidad a estudios más refinados que incluyan diversas drogas ya probadas como controles positivos.

AGRADECIMIENTOS

Queremos agradecer al Dr. Mauro Nirchio por la orientación en los análisis estadísticos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hugot J-P, Baujard P, Morand S. Biodiversity in helminths and nematodes as a field of study: an overview. *Nematology* [Internet]. 2001 Jan 1 [cited 2019 Aug 17];3(3):199-208. Available from: https://brill.com/view/journals/nemy/3/3/article-p199_1.xml
2. García-Prieto L, Osorio-Sarabia D, Lamothe-Argumedo MR. Biodiversidad de Nematoda parásitos de vertebrados en México [Internet]. Vol. 85, *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 2014. p. 171-6. Available from: <http://dx.doi.org/10.7550/rmb.31746>
3. Hotez PJ, Brindley PJ, Bethony JM, King CH, Pearce EJ, Jacobson J. Helminth infections: the great neglected tropical diseases [Internet]. Vol. 118, *Journal of Clinical Investigation*.

2008. p. 1311–21. Available from: <http://dx.doi.org/10.1172/jci34261>
4. Shalaby HA. Anthelmintics Resistance; How to Overcome it? Iran J Parasitol [Internet]. 2013 Jan;8(1):18–32. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23682256>
 5. P. DC, M. PM. PREVALENCIA DE PARÁSITOS INTESTINALES EN GALLOS DE PELEA DE LA CIUDAD DE CORO, ESTADO FALCÓN, VENEZUELA [Internet]. Vol. 24, Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú. 2014. Available from: <http://dx.doi.org/10.15381/rivec.v24i4.2748>
 6. Vásquez PT, Sanmiguel GAP, Lara DM. Resistencia antihelmíntica en los Nemátodos Gastrointestinales del bovino. Rev Med Vet [Internet]. 2007;(13):59–76. Available from: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4943896>
 7. Mayoral Peña Z, Piña Vazquez DM. El nematodo *Caenorhabditis elegans* como modelo para evaluar el potencial antihelmíntico de extractos de plantas. Revista mexicana de [Internet]. 2017; Available from: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-11242017000300279&script=sci_abstract&tlng=en
 8. Moreno FC, Gordon IJ, Wright AD, Benvenuti MA, Saumell CA. Efecto antihelmíntico in vitro de extractos de plantas sobre larvas infectantes de nematodos gastrointestinales de rumiantes. Arch Med Vet [Internet]. 2010;42(3):155–63. Available from: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?pid=S0301-732X2010000300006&script=sci_arttext
 9. Šimpraga M, Ljubičić I, Hlede JP, Vugrovečki AS, Marinculić A, Tkalčić S. Alternative approaches for the control of gastrointestinal nematodes in sheep farming: a review. Berl Munch Tierarztl Wochenschr [Internet]. 2015 Jul;128(7-8):257–70. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26281437>
 10. Veeresham C. Natural products derived from plants as a source of drugs [Internet]. Vol. 3, Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research. 2012. p. 200. Available from: <http://dx.doi.org/10.4103/2231-4040.104709>
 11. Bussmann RW, Sharon D. Plantas medicinales de los Andes y la Amazonía-La flora mágica y medicinal del Norte del Perú. Ethnobotany Research and [Internet]. 2018; Available from: https://www.researchgate.net/profile/Rainer_Bussmann/publication/329029046_Plantas_medicinales_de_los_Andes_y_la_Amazonia/links/5bf1b05792851c6b27c87d2e/Plantas-medicinales-de-los-Andes-y-la-Amazonia.pdf
 12. Okeniyi JAO, Ogunlesi TA, Oyelami OA, Adeyemi LA. Effectiveness of Dried *Carica papaya* Seeds Against Human Intestinal Parasitosis: A Pilot Study [Internet]. Vol. 10, Journal of Medicinal Food. 2007. p. 194–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1089/jmf.2005.065>
 13. Ibrahim TB, Mahdy OA. In vitro and In vivo Effects of *Carica papaya* Seed Extract on the Ultrastructure of the Tegument of *Prohemistomum vivax* (Sonsino, 1892) (Trematoda: Prohemistomatidae) [Internet]. Vol. 13, International Journal of Zoological Research. 2016. p. 45–53. Available from: <http://dx.doi.org/10.3923/ijzr.2017.45.53>
 14. Aziz MA, Adnan M, Khan AH, Shahat AA, Al-Said MS, Ullah R. Traditional uses of medicinal plants practiced by the indigenous communities at Mohmand Agency, FATA, Pakistan [Internet]. Vol. 14, Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine. 2018. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s13002-017-0204-5>
 15. Samuelsen AB. The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L. A review [Internet]. Vol. 71, Journal of Ethnopharmacology. 2000. p. 1–21. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/s0378-8741\(00\)00212-9](http://dx.doi.org/10.1016/s0378-8741(00)00212-9)
 16. Hosein Farzaei M, Abbasabadi Z, Reza Shams-Ardekani M, Abdollahi M, Rahimi R. A comprehensive review of plants and their active constituents with wound healing activity in traditional Iranian medicine. Wounds [Internet]. 2014 Jul;26(7):197–206. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25856320>
 17. Romero LFQ, Quesada Romero LF, Castaño Osorio JC, Bilbao M. Efecto antiparasitario de los extractos etanólicos y etéreos de *Ficus obtusifolia* Kunth (Moraceae), frente a parásitos de clase nematodos (*Toxocara catis* y *Toxocara canis*) [Internet]. Vol. 13, Infectio. 2009. p. 259–67. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/s0123-9392\(09\)70157-2](http://dx.doi.org/10.1016/s0123-9392(09)70157-2)
 18. Ferro LKP, Bustos AVG, Mora MRS. Caracterización fenotípica de la cepa N2 de *Caenorhabditis elegans* como un modelo en enfermedades neurodegenerativas [Internet]. Vol. 15, Nova. 2017. p. 69. Available from: <http://dx.doi.org/10.22490/24629448.2080>
 19. Nagashima T, Oami E, Kutsuna N, Ishiura S, Suo S. Dopamine regulates body size in *Caenorhabditis elegans*. Dev Biol [Internet]. 2016 Apr 1;412(1):128–38. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ydbio.2016.02.021>
 20. Huang L. Genetic dissection of developmental pathways [Internet]. WormBook. 2006. Available from: <http://dx.doi.org/10.1895/wormbook.1.88.1>
 21. Boyd WA, Smith MV, Freedman JH. *Caenorhabditis elegans* as a Model in Developmental Toxicology [Internet]. Methods in Molecular Biology. 2012. p. 15–24. Available from: http://dx.doi.org/10.1007/978-1-61779-867-2_3
 22. Tejada-Benitez L, Flegel R, Odigie K, Olivero-Verbel J. Pollution by metals and toxicity assessment using *Caenorhabditis elegans* in sediments from the Magdalena River, Colombia [Internet]. Vol. 212, Environmental Pollution. 2016. p. 238–50. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2016.01.057>
 23. Nirchio M, Oliveira C, Ferreira IA, Granado A, Ron E. Extensive polymorphism and chromosomal characteristics of ribosomal DNA in the characid fish *Triportheus venezuelensis* (Characiformes, Characidae). Genet Mol Biol [Internet]. 2007 [cited 2019 Aug 16];30(1):25–30. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1415-47572007000100007&script=sci_arttext
 24. Finney DJ, Stevens WL. A table for the calculation of working probits and weights in probit analysis. Biometrika [Internet]. 1948 May;35(Pts 1-2):191–201. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18867423>
 25. R.h.d., R. HD. Probit Analysis. By D. J. Finney, M.A., Sc.D., [2nd ed. Pp. xiv 318. Cambridge University Press, 1952. 35s.] [Internet]. Vol. 78, Journal of the Institute of Actuaries. 1952. p. 388–90. Available from: <http://dx.doi.org/10.1017/s0020268100052938>
 26. Sokal RR, Rohlf FJ. Introduction to biostatistics. New York [Internet]. 1987; Available from: <https://epdf.tips/introduction-to-biostatistics-second-edition.html>
 27. Espinosa-Moreno J, Centurión-Hidalgo D, Gerardo Guillermo Vera, Pérez-Castañeda E, Zaragoza-Vera CV, Martínez-Martínez S, et al. Actividad antihelmíntica in vitro de tres especies vegetales utilizadas tradicionalmente en Tabasco, México [In-

- ternet]. Vol. 0, Polibotánica. 2016. Available from: <http://dx.doi.org/10.18387/polibotanica.41.6>
28. Moya MA, Escudero VG. Las plantas medicinales en el control de nemátodos gastrointestinales en cabras: potencial de las plantas que crecen en la región de Coquimbo, Chile [Internet]. Vol. 17, Revista Brasileira de Plantas Medicinai. 2015. p. 480–94. Available from: http://dx.doi.org/10.1590/1983-084x/13_103
29. Iqbal Z, Lateef M, Akhtar MS, Ghayur MN, Gilani AH. In vivo anthelmintic activity of ginger against gastrointestinal nematodes of sheep. J Ethnopharmacol [Internet]. 2006 Jun 30;106(2):285–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2005.12.031>
30. Eguale T, Tilahun G, Debella A, Feleke A, Makonnen E. *Haemonchus contortus*: in vitro and in vivo anthelmintic activity of aqueous and hydro-alcoholic extracts of *Hedera helix*. Exp Parasitol [Internet]. 2007 Aug;116(4):340–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.exppara.2007.01.019>
31. Eguale T, Tilahun G, Debella A, Feleke A, Makonnen E. In vitro and in vivo anthelmintic activity of crude extracts of *Coriandrum sativum* against *Haemonchus contortus*. J Ethnopharmacol [Internet]. 2007 Apr 4;110(3):428–33. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2006.10.003>
32. Pinto Dávalos J, Bustamante García Z. Evaluación de la actividad gastroprotectora de los extractos de llantén (*Plantago major*). Biofarbo. 2008;16:36.
33. Nirchio M, Oliveira C. Citogenética de peces, 216 pp. Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela. 2006;
34. Storer AC, Ménard R. Papain [Internet]. Handbook of Proteolytic Enzymes. 2013. p. 1858–61. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-382219-2.00418-x>
35. Tabata M, Sezik E, Honda G, Yeşilada E, Fukui H, Goto K, et al. Traditional Medicine in Turkey III. Folk Medicine in East Anatolia, Van and Bitlis Provinces [Internet]. Vol. 32, International Journal of Pharmacognosy. 1994. p. 3–12. Available from: <http://dx.doi.org/10.3109/13880209409082966>
36. Gutiérrez-Vázquez JA, Oñoro J. Fabricación y comportamiento de espumas de aluminio con diferente densidad a partir de un precursor AlSi12 [Internet]. Vol. 46, Revista de Metalurgia. 2010. p. 274–84. Available from: <http://dx.doi.org/10.3989/rev-metalm.0841>
37. Actividad antibacteriana y sobre nematodos gastrointestinales de metabolitos secundarios vegetales: enfoque en Medicina Veterinaria. Abanico Vet [Internet]. 2018 Jan 2;8(1):14–27. Available from: <http://sisupe.org/revistasabanico/index.php/abanico-veterinario/article/view/157/124>

Correos:

Erick M. García M.: emgarcia_est@utmachala.edu.ec
Victor H. González C.: vgonzalez@utmachala.edu.ec
Gino C. Atariguana E.: gatariguana_est@utmachala.edu.ec
Thayana del C. Núñez Q.: tnunez@utmachala.edu.ec
Fredis F. Pesántez: fpesantez@utmachala.edu.ec
Katherine González: katili-gt@hotmail.com

Conflicto de intereses: Los autores declaran no tener conflictos de interés.

Fuente de financiamiento: Autofinanciado

