

Aceite esencial de *Eucalyptus cinerea* como inhibidor de la eclosión de *Haemonchus contortus* resistente a la ivermectina.

Eucalyptus cinerea essential oil as an inhibitor of the hatching of ivermectin-resistant *Haemonchus contortus*.

Daniel Melo-Guzmán^a, Adrián Zaragoza-Bastida^a, Gabino Misael López-Rodríguez^b, Armando Peláez-Acero^a, Agustín Olmedo-Juárez^c, Nallely Rivero-Perez^{a*}

Abstract:

Parasitosis in small ruminants is a frequent problem due to the metabolic alterations it causes, which negatively impact the economics of livestock production. *Haemonchus contortus* (HC) is a nematode responsible for gastrointestinal disorders, malabsorption syndrome, and anemia. Broad-spectrum anthelmintics have long been used as a control measure; however, their misuse has led to the emergence of resistance. As a result, non-pharmacological alternatives such as the use of essential oils are being explored. The present study aimed to evaluate the essential oil of *Eucalyptus cinerea* (AEEC) as an inhibitor of egg hatching in a mono-specific ivermectin-resistant strain of HC. The essential oil (EO) was extracted using steam distillation. AEEC was tested at concentrations ranging from 0.12% to 4% to determine the egg hatching inhibition percentage (%EHI) of HC. AEEC showed EHI values of 96.97%, 96.95%, and 96.32% at concentrations of 4%, 2%, and 1%, respectively, with EC₅₀ and EC₉₀ values of 0.15% and 0.83%. AEEC exhibited a concentration-dependent effect. Based on these results, AEEC appears to be a promising alternative for controlling HC by interfering with its biological cycle at the egg stage.

Keywords:

Parasitosis, anthelmintic effect, gastrointestinal nematodes, small ruminants.

Resumen:

Las parasitosis en pequeños rumiantes son un problema frecuente debido a las alteraciones metabólicas que provocan, lo que afecta negativamente a la economía pecuaria. *Haemonchus contortus* (HC) es un nematodo causante de cuadros gastroenterales, síndrome de mala absorción y anemia. Como medida de control, durante mucho tiempo se ha implementado el uso de antihelmínticos de amplio espectro; sin embargo, se ha desencadenado el fenómeno de resistencia debido a su uso indebido, por lo que se buscan alternativas no farmacológicas, como el uso de aceites esenciales. Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue evaluar el aceite esencial de *Eucalyptus cinerea* (AEEC) como inhibidor de la eclosión de huevos de una cepa monoespecífica de HC resistente a ivermectina. El aceite esencial (AE) se obtuvo mediante la técnica de arrastre de vapor; los porcentajes del AEEC evaluados fueron de 4 a 0,12 % y el porcentaje de inhibición de la eclosión de huevo (%IEH) de HC fue de 4 a 0,12 %. El AEEC mostró 96.97, 96.95 y 96.32 %IEH a 4, 2 y 1 %, con CE₅₀ y CE₉₀ de 0.15 y 0.83 % respectivamente. El AEEC mostró un comportamiento dependiente del porcentaje. Considerando los resultados obtenidos, se concluye que el AEEC puede ser una alternativa para el control de HC al interferir en su ciclo biológico en el huevo.

Palabras Clave:

Parasitosis, efecto antihelmíntico, nematodos gastrointestinales, pequeños rumiantes.

^aUniversidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Instituto de Ciencias Agropecuarias | Santiago Tulantepec de Lugo Guerrero-Hidalgo | México, Daniel Melo Guzmán, <https://orcid.org/0009-0000-1766-5226>, Email: me384251@uaeh.edu.mx, Adrian Zaragoza Bastida, <https://orcid.org/0000-0002-8537-5025>, Email: adrian_zaragoza@uaeh.edu.mx, Armando Peláez Acero, <https://orcid.org/0000-0001-7004-4824>, Email: pelaeza@uaeh.edu.mx, * Nallely Rivero Perez, <https://orcid.org/0000-0002-6154-9983>, Email: nallely_rivero@uaeh.edu.mx.

^b Universidad de la Costa | Santiago Pinotepa Nacional, Distrito Jamiltepec-Oaxaca | México, Gabino Misael López Rodríguez, <https://orcid.org/0000-0002-1619-6031>, Email: misalopr@gmail.com.

^c Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Parasitología Veterinaria, INIFAP | Jiutepec-Morelos | México, Agustín Olmedo Juárez, <https://orcid.org/0000-0001-5499-7449>, Email: olmedoj@gmail.com.

Fecha de recepción: 26/05/2025, Fecha de aceptación: 09/09/2025, Fecha de publicación: 05/07/2026

1. Introducción

Las enfermedades causadas por parásitos en los pequeños rumiantes constituyen un problema frecuente para los productores debido a las afecciones metabólicas que generan, lo que afecta negativamente la economía pecuaria. HC es un parásito nematodo que afecta a los pequeños rumiantes, causa cuadros gastroentéricos, síndrome de mala absorción y anemia debido a su hábito hematófago; ocasionando pérdidas significativas para los productores, es el nematodo con mayor prevalencia en unidades de producción ovina [1]

Debido a los problemas de parasitosis en la producción ganadera, tradicionalmente se ha implementado como medida de control el uso de antihelmínticos de amplio espectro, como los benzimidazoles, los imidazotiazoles y las lactonas macrocíclicas; sin embargo, su mal uso ha desencadenado el fenómeno de resistencia [2]. En el año 1964 se reportó la primera denuncia de resistencia a los antihelmínticos y, desde entonces, el número de casos ha aumentado a nivel mundial, ocasionando estragos en la ganadería [3]. Ante este problema se buscan alternativas no farmacológicas y amigables con el medio ambiente, como el uso de fitoquímicos de plantas con propiedades medicinales [4].

Eucalyptus cinerea es un árbol de la familia Myrtaceae, originario de Australia; actualmente, su distribución es cosmopolita debido a su gran adaptabilidad y crecimiento rápido, además de su uso en cosmética, alimentos y medicina por sus propiedades antimicrobianas, astringentes, antiinflamatorias, antisépticas y expectorantes [5]. Una de las actividades biológicas que se le atribuyen es la actividad biocida de las hojas, los extractos y el aceite esencial de EC sobre *Callosobruchus maculatus* [6].

El objetivo del presente estudio fue evaluar el aceite esencial de EC como inhibidor de la eclosión de una cepa mono-específica de HC resistente a ivermectina.

2. Materiales y métodos

Obtención del material vegetal: Se colectaron partes aéreas de diez árboles de *Eucalyptus cinerea* (EC) en el verano de 2023 en la región de Santiago

Tulantepec de Lugo Guerrero, Hidalgo, México latitud norte 20° 02' 18", longitud oeste 98° 21' 21"

Obtención del aceite esencial: La destilación del aceite esencial se realizó según la metodología de [7]. Se utilizaron 250 g de partes aéreas de la planta triturada, previamente lavadas con agua destilada y secadas bajo sombra durante 72 horas; posteriormente, se añadieron 2500 mL de agua destilada y, mediante la técnica de arrastre de vapor, se recuperó el aceite esencial de *Eucalyptus cinerea* (AEEC).

Obtención de heces: Se realizó una colecta de 30 g de heces directamente del recto de un ovino donante infectado con la cepa INIFAP de *Haemonchus contortus* (HC), resistente a la ivermectina.

Procesamiento de las muestras: Los 30 g de heces fueron procesados en el CENID-SAI del INIFAP en el municipio de Jiutepec, Morelos; se realizaron las técnicas de flotación y McMaster para identificar HC y determinar la cantidad de huevos por gramo de heces, de acuerdo con la metodología descrita por [8].

Recuperación de huevos de nematodos gastrointestinales: En el mismo día de la colecta, las heces fueron homogenizadas y lavadas en tamices de 200, 100, 75 y 35 µm, para recuperar una solución de huevos limpios, siguiendo la metodología descrita por [9]. Se ajustó la solución de huevos a una concentración de 150 a 200 huevos en 50 µL, considerando que los huevos deben utilizarse en un plazo inferior a 24 horas, siempre y cuando se mantengan a 4°C para obtener resultados confiables.

Evaluación de la inhibición de la eclosión de huevos de HC: En una placa ELISA de 96 pozos se colocaron 50 µL de la solución de huevos limpios previamente ajustados, junto con 50 µL del AEEC a 4, 2, 1, 0,5, 0,25 y 0,12 %. Se utilizó tiabendazol (0.1 mg/mL) como control positivo y agua estilada como control negativo, con cuatro repeticiones por tratamiento. La placa fue incubada a 30 °C durante 48 horas para su posterior lectura, observando 10 alícuotas de 10 µL bajo el microscopio óptico de marca Motic BA210 con el objetivo 4x, de cada pozo, contabilizando el número de huevos y larvas en cada alícuota. Para determinar el porcentaje de inhibición de la eclosión de huevo, utilizar la siguiente fórmula propuesta por [10].

% de inhibición de la eclosión

$$= \frac{\text{No. Huevo}}{\text{No. L1} + \text{No. Huevo}} * 100$$

Donde No. L1 es igual al número de larvas tipo 1

Análisis estadístico: Los datos obtenidos fueron analizados mediante un análisis de varianza y una comparación de medias por Tukey, a un nivel de confianza del 95%, en el paquete estadístico Minitab 18.

3. Resultados

De acuerdo con los resultados del %IEH se observó que los porcentajes evaluados de AEEC (4, 2, 1, 0.5, 0.25, 0.12 %) inhibieron la eclosión de HC del 96.97, al 37.35 %, destacando que el 4, 2 y 1 % del AEEC producen el 96.97, 96.95 y 96.32 %IEH sin presentar diferencias estadísticas significativas con Tiabendazol (98.62 %), evidenciando un comportamiento porcentaje-dependiente, donde a menor porcentaje de AEEC, menor es el %IEH (Cuadro1).

Cuadro 1. Porcentaje de inhibición de la eclosión de huevos (%IEH) de HC expuestos al AEEC.

Tratamientos	%IEH ± D.E
Agua destilada	0.00 ^e
Tiabendazol	98.43 ± 1.811 ^a
AEEC (%)	
4.0	96.97 ± 2.34 ^a
2.0	96.95 ± 1.025 ^a
1.0	96.32 ± 2.37 ^a
0.5	82.75 ± 4.98 ^b
0.25	67.72 ± 4.08 ^c
0.12	37.35 ± 5.11 ^d
Valor P	0.0001

a, b, c, d, e: Medias dentro de la misma columna con literales distintos indican diferencias estadísticamente significativas. D.E. = desviación estándar, AEEC = aceite esencial de *Eucalyptus cinerea*.

Como se muestra en la Figura 1, respecto a las concentraciones efectivas, los resultados de la presente investigación indican una CE₅₀ y una CE₉₀ de 0,15 % y 0,83 %, respectivamente, para la inhibición de la eclosión de HC.

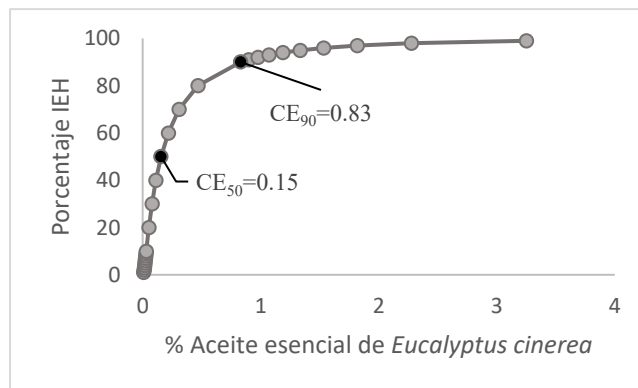


Figura 1. Concentraciones efectivas de 50 y 90 requeridas para inhibir la eclosión de huevos de HC expuestos al AEEC. [Elaborado por los autores].

4. Discusión

Al evaluar el AEEC sobre la inhibición de la eclosión de huevos de HC resistente a ivermectina, se determinó que el AEEC inhibe la eclosión de huevos de HC entre 96.97 % y 37.35 % a los diferentes porcentajes evaluados (4, 2, 1, 0.5, 0.25 y 0.12 %). Su efecto puede deberse al contenido de eucaliptol [11] o de 1,8-cineol, un monoterpeno cíclico, principal componente de los aceites esenciales de *Eucalyptus* spp., al cual se le atribuye actividad repelente de insectos e insecticida [12], así como a la presencia de otros compuestos como cineol, limoneno, p-cimeno, citronelol y piperitona [13]. Los compuestos oxigenados como el 1,8 cineol, rompen y alteran las membranas celulares, debido a los compuestos lipofílicos afectando diversas enzimas y estructuras en la membrana celular de los parásitos, [14] los cuales ingresan por medio de una difusión transcuticular, interfiriendo con su metabolismo y algunas funciones vitales como la locomoción [15] debido a la inhibición de la enzima acetilcolinesterasa, produciendo un daño neurológico similar a compuestos químicos como organofosforados [16] además de un posible efecto semejante a los benzimidazoles al impedir el desarrollo larvario dentro del huevo, deteniendo la embriogénesis y produciendo huevos inviables [21].

Un estudio realizado por López y Pascual-Villalobos [17] evaluaron el aceite esencial de *Eucalyptus staigeriana* sobre la inhibición de la eclosión de HC observándose que el AE a concentraciones de 1.35 a 0.08 mg/mL presentó del 99.27 al 6.46 % de IEH evidenciando un comportamiento dosis dependiente, similar al del presente estudio, destacando una actividad similar entre arboles del mismo género y diferente especie.

Por otro lado, Ribeiro y colaboradores [18] evaluaron el aceite esencial de *E. staigeriana* sobre el %IEH de HC, el AE a concentraciones del 1 a 0.12 mg/mL presentó del 99.96 al 20.01 %IEH, la variabilidad que existe entre los %IEH con los del presente estudio se podría deber a la diferencia entre especies y a los diversos factores que comprenden la biodisponibilidad de los metabolitos secundarios concentrados en las plantas.

Araujo-Filho y colaboradores [19] evaluaron el AE de *E. citriodora* sobre el %IEH de dos cepas de *H. contortus* susceptible y resistente a antihelmínticos sintéticos, a concentraciones de 1 a 0.125 mg/mL, se observó del 96.46 a 10.82 % en la cepa susceptible y del 97.15 a 10.73 % en la cepa resistente, en comparación con el presente estudio se utilizó una cepa mono-específica de HC resistente a ivermectina donde se observaron mejores %IEH en comparación con la cepa susceptible, esto se podría deber a los diferentes metabolitos secundarios encontrados en las dos especies vegetales.

En el estudio de Mota y colaboradores [20] se evaluó el AE de hojas de *Croton blanchetianus* sobre el %IEH de parásitos gastrointestinales de ovinos, con valores de 8, 12 y 16 %, que se asociaron con %IEH de 82, 81 y 79 %, respectivamente. En comparación con los resultados del presente estudio, en el que se utilizaron porcentajes más bajos, con un mejor efecto, asociándose al uso de diferentes plantas, técnicas de extracción del aceite esencial y a los metabolitos secundarios presentes.

5. Conclusiones

El presente estudio evidenció la actividad antihelmíntica de *Eucalyptus cinerea* al inhibir la eclosión de huevos de *Haemonchus contortus* resistentes a ivermectina, destacando su posible uso

como alternativa a los antihelmínticos convencionales, promoviendo prácticas amigables con el medio ambiente, efectivas y capaces de reducir la resistencia a los antihelmínticos.

Antes de utilizar el AEEC como estrategia de control y/o tratamiento de infecciones causadas por HC en pequeños rumiantes, es necesario realizar pruebas sobre la fase larvaria del nematodo, identificar los fitocompuestos a los que se les atribuye dicha actividad, realizar pruebas de citotoxicidad y ensayos *in vivo*.

Agradecimientos

Agradecimiento al CENID Salud Animal e Inocuidad del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias por los recursos facilitados.

Conflicto de intereses

Todos los autores declaran que no tienen ningún conflicto de interés.

Referencias

- [1] López-Rodríguez, G., Rivero-Perez, N., Olmedo-Juárez, A., Valladares-Carranza, B., Rosenfeld-Miranda, C., Hori-Oshima, S., & Zaragoza-Bastida, A., Effect of *Leucaena leucocephala* leaves hydroalcoholic extract over the hatching of *Haemonchus contortus* *in vitro*. *Abanico Veterinario*, 2022, 12, 105. <https://doi.org/10.21929/abavet2022.8>
- [2] Márquez D. Resistencia a los antihelmínticos en nematodos de rumiantes y estrategias para su control. *Rev Corpoica*. 2003; 4(1):55-71. <http://hdl.handle.net/20.500.12324/15457>.
- [3] Alkadir G, Kumsa B, Terefe G. Review on Anthelmintic Resistance in Domestic Ruminants. *J Vet Med Res*. 2023; 10(1): 1237. <https://doi.org/10.47739/2378-931X/1237>
- [4] Ayushman Gadnayak, Budheswar Dehury, Chapter 5 - Phytochemicals: recent trends in food, pharmacy, and biotechnology, Editor: Siddhartha Pati, Tanmay Sarkar, Dibyajit Lahiri, *Recent Frontiers of Phytochemicals*, 2023; 85-93. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-19143-5.00031-1>.
- [5] Silva, S. M., Abe, S. Y., Murakami, F. S., Frensch, G., Marques, F. A., & Nakashima, T. Essential Oils from Different Plant Parts of *Eucalyptus cinerea* F. Muell. ex Benth. (Myrtaceae) as a Source of 1,8-Cineole and Their Bioactivities. *Pharmaceuticals*. 2011; 4(12), 1535-1550. <https://doi.org/10.3390/ph4121535>
- [6] Rocio RHJ. Efecto biocida de la especie vegetal *Eucalyptus cinerea* contra *Callosobruchus maculatus* (gorgojo del garbanzo). 2022. <https://repositorio.unica.edu.pe/items/1d3e3fc8-d40f-40bc-a1c6-9fe98147132>.
- [7] Paucar Maza, M. A., & Orta Toapanta, F. R. Diseño y construcción de un sistema de enfriamiento para el equipo de extracción de aceites esenciales por arrastre de vapor (Bachelor's thesis, Escuela Superior

- Politécnica de Chimborazo). 2018. <https://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/8655>.
- [8] Rivero-Perez, N., Zaragoza-Bastida, A., Vega-Sánchez, V., Olave Leyva, I., Vega-Angeles, J., & Peña-Jiménez, F. Identificación de los principales parásitos gastrointestinales en burros del Valle de Tulancingo. *Abanico Veterinario*. 2017. <https://doi.org/10.21929/abavet2018.81.4>.
- [9] Rivero-Perez, N., Jaramillo Colmenero, A., Peláez-Acero, A., Rivas-Jacobo, M., Ballesteros-Rodea, G., & Zaragoza-Bastida, A. Actividad antihelmíntica de la vaina de *Leucaena leucocephala* sobre nematodos gastrointestinales de ovinos (*in vitro*). *Abanico Veterinario*. 2019; 9. <https://doi.org/10.21929/abavet2019.95>.
- [10] Castillo-Mitre, G. F., Olmedo-Juárez, A., Rojo-Rubio, R., González-Cortázar, M., Mendoza-de Gives, P., Hernández-Beteta, E. E., ... & Zamilpa, A. Caffeoil and coumaroyl derivatives from *Acacia cochliacantha* exhibit ovicidal activity against *Haemonchus contortus*. *Journal of Ethnopharmacology*, 2017; 204, 125-131. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.04.010>.
- [11] Macedo, I. T., Bevilacqua, C. M., de Oliveira, L. M., Camurça-Vasconcelos, A. L., Vieira, L. D. S., Oliveira, F. R., ... & Nascimento, N. R. Anthelmintic effect of *Eucalyptus staigeriana* essential oil against goat gastrointestinal nematodes. *Veterinary Parasitology*, 2010; 173(1-2), 93-98. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.06.004>.
- [12] Zaldivar, G. V., Victoriano, L. G., Pérez, J. C., González, B. F., & Martínez, M. G. Obtención y evaluación de propiedades antioxidantes de extractos de orégano (*Lippia graveolens*), eucalipto (*Eucalyptus cinerea*) y chile jalapeño (*Capsicum annuum* cv.). *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 2023; 8(1), 319-325. <https://doi.org/10.29105/ideyta.v8i1.43>.
- [13] Santos, F. L. O., Lima, P. M., de Almeida, J. B., Amaral, J. G., Ruela, A. L. M., & dos Santos, M. S. Ação antimicrobiana e caracterização fitoquímica dos óleos essenciais de *Eucalyptus* e Pinho. *Research, Society and Development*, 2025; 14(2), e5014248225-e5014248225. <https://doi.org/10.33448/rsd-v14i2.48225>.
- [14] Rodrigues, A. M., & Faria, J. M. Profiling the variability of *Eucalyptus* essential oils with activity against the Phylum Nematoda. *Biology and Life Sciences Forum*. 2021, 2, 1-6. <https://doi.org/10.3390/BDEE2021-09425>.
- [15] Castilho, C. V., Fantatto, R. R., Gáinza, Y. A., Bizzo, H. R., Barbi, N. S., Leitão, S. G., & Chagas, A. C. S. In vitro activity of the essential oil from *Hesperozygis myrtoides* on *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* and *Haemonchus contortus*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2017; 27, 70-76. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjrp.2016.08.005>.
- [16] Katiki, L. M., Barbieri, A. M. E., Araujo, R. C., Veríssimo, C. J., Louvandini, H., & Ferreira, J. F. S. Synergistic interaction of ten essential oils against *Haemonchus contortus* *in vitro*. *Veterinary Parasitology*. 2017; 243, 47-51. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.06.008>.
- [17] López, M. D., & Pascual-Villalobos, M. J. Mode of inhibition of acetylcholinesterase by monoterpenoids and implications for pest control. *Industrial Crops and Products*. 2010; 31(2), 284-288. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2009.11.005>.
- [18] Ribeiro, W. L. C., Macedo, I. T. F., dos Santos, J. M. L., de Oliveira, E. F., Camurça-Vasconcelos, A. L. F., de Paula, H. C. B., & Bevilacqua, C. M. L. Activity of chitosan-encapsulated *Eucalyptus staigeriana* essential oil on *Haemonchus contortus*. *Experimental Parasitology*. 2013; 135(1), 24-29. <http://dx.doi.org/10.1016/j.exppara.2013.05.014>.
- [19] Araújo-Filho, J. V., Ribeiro, W. L., André, W. P., Cavalcante, G. S., de CM Guerra, M., Muniz, C. R., ... & de Oliveira, L. M. Effects of *Eucalyptus citriodora* essential oil and its major component, citronellal, on *Haemonchus contortus* isolates susceptible and resistant to synthetic anthelmintics. *Industrial Crops and Products*. 2018; 124, 294-299. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.07.059>.
- [20] Mota, Y., França, A. K. A., BATISTA, J. I. L., de Albuquerque, C. C., Batista, J. S., & Bezerra, A. C. D. S. Controle de endoparasitos gastrointestinais de ovinos pela ação do óleo essencial da folha do marmeleiro (*Croton blanchetianus*). *Interfaces Científicas-Saúde e Ambiente*. 2024; <https://doi.org/10.17564/2316-3798.2024v9n3p584-595>.
- [21] Massara, C. L., Ferreira, R. S., Guerra, H. L., & Carvalho, O. D. S. In vitro study on thiabendazole action on viability of *Ascaris lumbricoides* (Lineu, 1758) eggs. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 2001; 34, 319-322. <https://doi.org/10.1590/S0037-86822001000400002>.