

ESTUDIOS DE LA RESISTENCIA A ACARICIDAS ORGANOFOSFORADOS DEL BOOPHILUS MICROPLUS EN EL URUGUAY

I PERFIL DE SENSIBILIDAD DE LA CEPA MOZO TOMADA COMO PATRON SENSIBLE

Dres. CARDOZO, H.; PETRACCIA, C.; NARI, A. y SOLARI, M. A.*

R E S U M E N

Se aplicó la técnica de Stone y Haydock, utilizando larvas de 10 a 14 días de la cepa Mozo —considerada sensible—, para estudiar su comportamiento y determinar la dosis letal 50 (DL 50) y la DL 99 ante distintos acaricidas organofosforados en uso en Uruguay.

Se comentan los resultados y se recomienda esta cepa para ser utilizada como referencia de cepa susceptible y como patrón de medida ante cepas problemas de campo.

Palabras Claves: GARRAPATA, BOOPHILUS, ACARICIDA, ANTIPARASITARIO, COMPUESTO ORGANICO DEL FOSFORO.

VETERINARIA 20 (86/87) 11-15 ene.-jun. 1984

S U M M A R Y

Stone and Haydock test was used to study the behaviour of 10-14 days old sensible Mozo strain larvae. 50 lethal dose (DL 50) and 99 lethal dose (DL 99) were determined with the same technique after exposure of strains to OP acaricides used in Uruguay.

Results are discussed and Mozo strain is recommended to be used as susceptible reference strain and as measure pattern for field problem strains.

Key Words: IXODIDAE, BOOPHILUS, ACARICIDES, ANTIPARASITIC AGENTS, ORGANIC PHOSPHORUS COMPOUNDS.

VETERINARIA 20 (86/87) 11-15 jan.-jun. 1984

INTRODUCCION:

La garrapata *Boophilus microplus* ha ido desarrollando resistencia a todos los núcleos químicos que a través de los años se han utilizado para su combate (5) (6) (8) (10) (11).

La campaña sanitaria en Uruguay está controlada oficialmente y se basa en la utilización de baños acaricidas (2). Las fallas en el control han sido detectadas cada vez con más frecuencia en los últimos años y la utilización de los garrapaticidas organofosforados está siendo limitada a ciertas regiones, donde el problema de la resistencia aún no se ha manifestado.

Se hace necesaria la adopción de una técnica que sea práctica en su aplicación y cuyo uso sea extendido entre los que trabajan en el tema, u efectos de que los resultados puedan ser comparables (3).

El Centro de Investigaciones Veterinarias "Miguel C. Rubino" ha adoptado la técnica desarrollada por Stone y Haydock en el año 1962, la cual es recomendada por FAO en todo el mundo (3) (4).

Mediante su aplicación sistemática sobre las larvas de la cepa de *Boophilus microplus* denominada Mozo, considerada sensible a todos los acaricidas en uso en el país, se procura alcanzar los siguientes objetivos:

—Estudiar su comportamiento biológico ante la aplicación de la técnica.

—Determinar la dosis letal 50 (DL 50) y la dosis letal 99 (DL 99), para ser utilizada como patrón de medida de resistencia de cepas de campo.

MATERIAL Y METODO:

1.1. Cepa utilizada:

Proviene del departamento de Cerro Largo, de un establecimiento donde las presiones de baños fueron pocas y fundamentalmente con arsenicales.

Las cuatro teleóginas que se trajeron por primera vez, fueron criadas y mantenidas en condiciones de laboratorio desde mayo de 1973, sin que se ejerciera hasta la fecha ninguna presión de baño sobre la población obtenida.

1.2. Condiciones de cría:

Se reproduce su ciclo parasitario utilizando bovinos estabulados e infectados con 10.000 larvas, de la eclosión de 0,5 gr. de huevos, una vez por semana.

Las teleóginas recogidas son acondicionadas en cajas de Petri y puestas en estufas a 27°C y 80 % de humedad relativa.

A los 14 días se separan los huevos y se siguen incubando en tubos con tapones de malla fina.

La población de larvas obtenidas son las utilizadas para determinar su sensibilidad.

1.3. Productos químicos:

Los productos utilizados fueron de grado técnico, lo más puros posible. Estos principios activos fueron: Conmaphos 100 %, Ethion 100 %, Diazinon 100 %, Chloorfenvinphos 97 %, Chlorpyrifos 99,7 %, Pirimiphos 95 %, Propentaphos 92 %.

* Médicos Veterinarios, Técnicos del Centro de Investigaciones Veterinarias "Miguel C. Rubino", Ruta 8 "Brig. Gral. Juan A. Lavalleja", Km. 29, Pando, Canelones; Casilla de Correo 6577, Montevideo - Uruguay.

CUADRO Nº 1. PORCENTAJES DE MORTALIDAD OBTENIDOS CON LAS
DISTINTAS CONCENTRACIONES EN gr./100 ml DE LOS ACARICIDAS UTILIZADOS.

COUMAPHOS																	
Concentración		0.0078		0.0156		0.0132		0.0685		0.125							
	M	V	T+	M	V	T	M	V	T	M	V	T	M	V	T		
de larvas	6	981	987	92	926	1018	828	325	1153	1049	10	1059	990	0	990		
% de mortalidad		0.60		9.03				71.81			99.05			100			
ETHION																	
Concentración		0.039		0.078		0.156		0.312		0.625							
	M	V	T	M	V	T	M	V	T	M	V	T	M	V	T		
de larvas	0	903	903	24	815	839	281	645	926	765	108	873	912	0	912		
% de mortalidad		0		286				30.34			87.62			100			
DIAZINON																	
Concentración		0.0039		0.0078		0.0156		0.0132					M	V	T		
	M	V	T	M	V	T	M	V	T	M	V	T					
de larvas	72	962	1034	307	679	985	756	132	888	901	0	901					
% de mortalidad		6.96		31.16				85.13			100						
CHLOORFENVINPHOS																	
Concentración		0.0039		0.0078		0.0156		0.0312					M	V	T		
	M	V	T	M	V	T	M	V	T	M	V	T	M	V	T		
de larvas	15	872	888	25	857	882	160	731	891	645	295	940	900	5	905		
% de mortalidad		1.70		2.83				17.96			68.62			99.45			
CHLORPYRIPHOS																	
Concentración		0.0039		0.0078		0.0156		0.0312					M	V	T		
	M	V	T	M	V	T	M	V	T	M	V	T	M	V	T		
de larvas	22	821	843	127	743	870	461	510	971	840	97	937	1010	1	1011		
% de mortalidad		2.61		14.60				47.48			89.65			99.90			
PIRIMIPHOS																	
Concentración		0.0078		0.00156		0.0312		0.0625					M	V	T		
	M	V	T	M	V	T	M	V	T	M	V	T	M	V	T		
de larvas	97	866	963	403	617	1020	800	169	969	965	27	982	984	0	984		
% de mortalidad		10.07		39.51				82.56			97.28			100			
PROPENTANPHOS																	
Concentración		0.0019		0.0039		0.0078		0.0156					M	V	T		
	M	V	T	M	V	T	M	V	T	M	V	T	M	V	T		
de larvas	3	972	975	13	733	746	70	7.4	985	485	395	880	1043	7	1050		
% de mortalidad		0.31		1.74				915			55.11			99.33			
	V: Vivas		M: Muertas		T: Total												

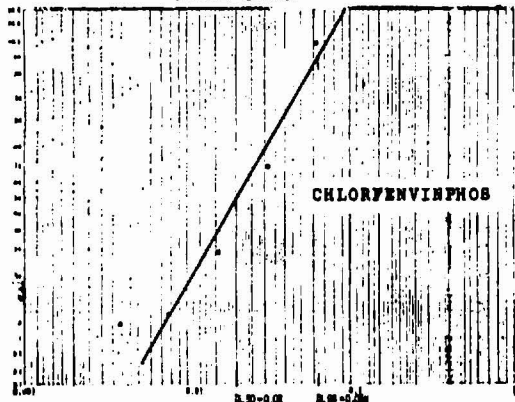
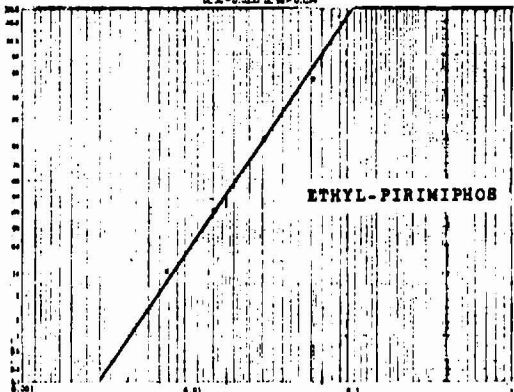
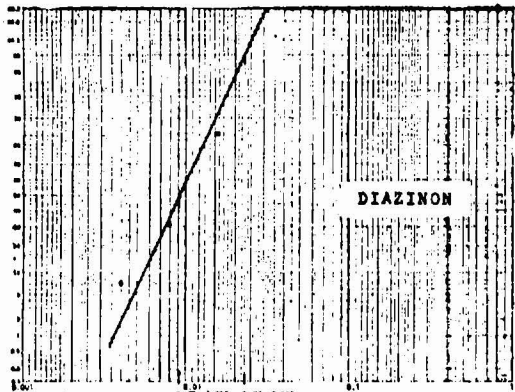
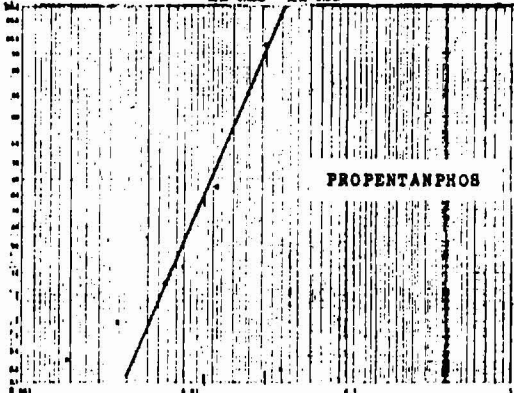
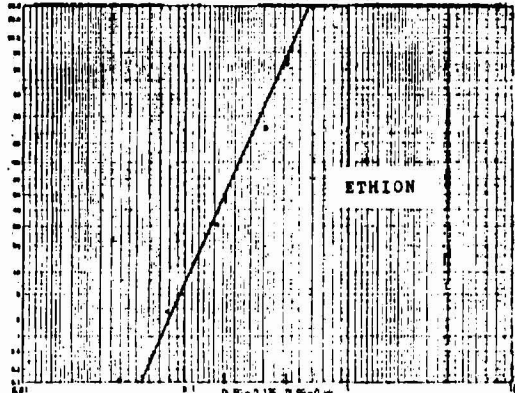
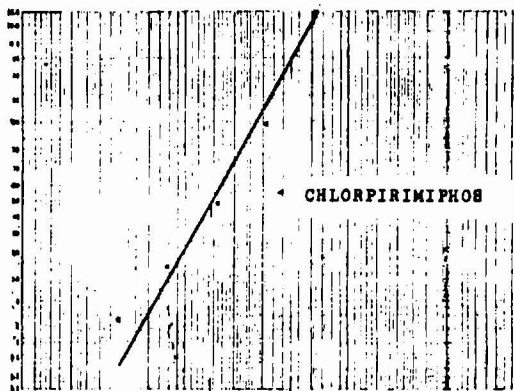
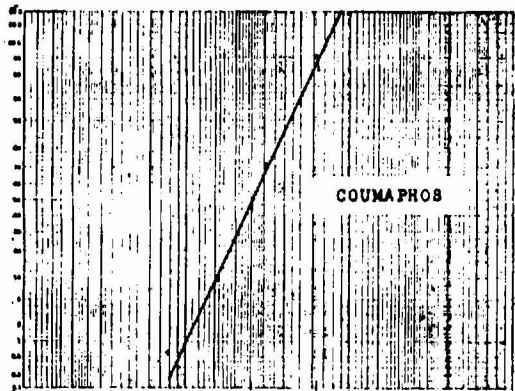


FIGURA 1—
 CACULO DE DOSIS LETAL 50 %
 Y DOSIS LETAL 99% (DL99) CON
 PAPEL DOBLE LOGARITMICO

1.4. Técnica:

Se aplicó la técnica de Stone y Haydock recomendada por FAO. Las larvas utilizadas fueron de 10 a 14 días de nacidas.

Para cada producto las concentraciones se fueron reduciendo a la mitad, a partir de la primera dilución.

Se hicieron dos sobres por dilución, de cada producto, y el procedimiento se repitió cinco veces, obteniendo así 10 réplicas con 100 larvas aproximadamente, en cada una.

Con el Diazinon se utilizaron cuatro diluciones. Los resultados se representan en papel doble logarítmico, colocando en abscisas las concentraciones crecientes y en ordenadas las mortalidades.

1.5. Análisis estadístico:

Se siguió el método de los "probits", en función de los logaritmos de las dosis según la sistemática de Bliss (1) (5).

RESULTADOS:

El número de larvas promedio que se utilizó para cada sobre impregnado fue de 95 con un rango de 74 a 115.

Las larvas vivas y muertas obtenidas en cada caso, así como el porcentaje de mortalidad calculado, se muestran en el Cuadro 1.

Al llevar los resultados en él mostrado a papel doble logarítmico, representando en abscisas las concentraciones crecientes y en ordenadas los porcentajes de mortalidad, se puede obtener la DL 50 y la DL 99 aproximada para cada producto (Figura 1 y Cuadro 2).

CUADRO 2. ESTIMACION DE LAS DL 50 Y DL 99 POR LA REPRESENTACION GRAFICA DE LOS RESULTADOS EN PAPEL DOBLE LOGARITMICO.

Acaricidas	DL 50	DL 99
Coumaphos	0.025	0.064
Ethion	0.175	0.44
Diazinon	0.0093	0.023
Chloorfenvinphos	0.02	0.064
Chlorpyriphos	0.0145	0.045
Pirimiphos	0.018	0.07
Propentaphos	0.0133	0.034

Mediante el análisis estadístico de los datos del Cuadro 1, aplicando la sistemática de Bliss, se establecen con cierta confiabilidad, las dosis que matan el 50 % y el 99 % de las larvas expuestas a cada producto.

Estos resultados se encuentran entre dos límites, cuya probabilidad de ocurrencia es igual o menor que 0,05.

Las DL 50 y DL 99 obtenidas por la sistemática de Bliss, así como los límites de confianza para la DL 50. Se muestran en el Cuadro 3.

CUADRO 3. RESULTADOS DE LA DL 50 % CON SUS LIMITES DE CONFIANZA (P. error menor 0.05) Y LA DL 99 POR LOS DISTINTOS ACARICIDAS UTILIZADOS CON LA CEPA MOZO DE BOOPHILUS MICROPLUS.

Productos	DL 50% Lim. inf.	Lim. sup.	DL 99
Coumaphos	0.02517	0.0247	0.0257 0.0624
Ethion	0.19026	0.1853	0.1953 0.5203
Diazinon	0.00930	0.00905	0.00956 0.0308
Chlorpyriphos	0.01526	0.0147	0.01579 0.06521
Chlorpyrinphos	0.01526	0.0147	0.01579 0.06521
Pirimiphos	0.018	0.0174	0.01861 0.08012
Propentaphos	0.0143	0.1392	0.01474 0.0424

La cepa Mozo sometida al tratamiento con acaricidas fosforados, disueltos en aceite de oliva, se comportó como sensible. Luego del tratamiento, las larvas respondieron menos al estímulo del calor, la luz y el anhídrido carbónico, y sus movimientos fueron más lentos.

DISCUSION:

Las observaciones realizadas sobre el comportamiento biológico de la cepa Mozo luego del tratamiento, muestran diferencias con la cepa Yeerongpilly, utilizada en Australia como patrón de susceptibilidad a los orfanofosforados (4). Sus movimientos más lentos y su menor reacción a los estímulos ya habían sido observados por J.J. Wilson en el año 1979 (12). Sin embargo, estas diferencias no impiden que la cepa Mozo, biológicamente, sea adecuada para su utilización en el test de Stone y Haydock.

Esta cepa ha sido utilizada desde el año 1973 en prueba de establo, para la aprobación de acaricidas que entran a la venta en nuestro mercado. En esas pruebas se ha comportado como sensible a las concentraciones recomendadas de todos los organofosforados testados*.

Si comparamos los resultados de DL 50 obtenidos para la cepa Mozo por el test de Stone y Haydock, con los de la cepa patrón australiana, vemos que existe similitud (3) (Cuadro 4).

CUADRO 4. COMPARACION DE RESULTADOS DE LA DL 50 DE LA CEPA MOZO CON LA CEPA YEERONGPILLY AUSTRALIANA.

Productos	DL 50 Mozo	DL 50 Yeerongpilly
Coumaphos	0.025	0.048
Ethion	0.19	0.15
Diazinon	0.0093	0.012
Chloorfenvinphos	0.0236	0.026
Chlorpyriphos	0.015	0.018
Pirimiphos	0.018	—*
Propentaphos	0.0139	—*

* No se dispone de datos sobre DL 50 para Yeerongpilly.

Tal como se aprecia en las gráficas de la Figura 1, los puntos determinados con los datos obtenidos experimentalmente muestran una tendencia a orientarse según la dirección de una recta. Ello indica que se trabajó con una cepa pura en su composición genética en cuanto a resistencia a los organofosforados (13).

Aquellas cepas con alelos resistentes, o sea impuras, determinan en las mismas condiciones experimentales, curvas sigmoideas.

El estudio de varianza realizado muestra que no existen diferencias significativas entre los resultados de DL 50 y DL 99 obtenidos por las gráficas, por la sistemática de Bliss.

CONCLUSIONES:

Al aplicar la técnica de Stone y Haydock recomendada por FAO, en la cepa Mozo, se puede llegar a las siguientes conclusiones:

—La cepa Mozo resultó biológicamente adecuada para la aplicación sistemática de la técnica mencionada.

—La cepa Mozo se comportó como susceptible a los acaricidas organofosforados usados.

—La población de larvas utilizada apareció como genéticamente homogénea en cuanto a resistencia.

—Los resultados fueron repetibles.

* Cardozo, H. Comunicación personal.

- En el análisis estadístico de los resultados se llegó a una DL 50 que puede ser utilizada como patrón para el cálculo de factores de resistencia de cepas problema.
- La DL 99 puede ser tomada como dosis discriminatoria ante una sospecha de resistencia.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. BLIS, C.I. Ann. Applied Bio. 22: 134 - 167; 307 - 333, 1935.
2. CIAT. Ecología y control de los parásitos externos de importancia económica que afectan el ganado en América Latina, 25 al 30 de agosto de 1975, Serie C.S. - 13, Cali, Colombia, 1977.
3. FAO. Plant Protection Bulletin. Recommended methods for the detection and measurement of resistance of agricultural pests to pesticides. Vol. 19 (Nº 1): 15 - 18, 1971.
4. FINNEY, D.J. Ann. Applied Biol. 31: 68 - 74, 1944
5. GRILLO TORRADO, J.M. y GUTIERREZ, R. Método para medir la actividad de los acaricidas sobre larvas de garrapatas. Evaluación de sensibilidad. Rev. Patol. Anim. 6: 135 - 158, 1969.
6. KITAOKA, S. y YAJIMA, A. Comparison of effectiveness between pesticides against *Boophilus microplus* by topical application and spraying. National Institute.
7. MINISTERIO DE GANADERIA Y AGRICULTURA, ROU. Ley Nº 12293. Para la erradicación de la garrapata. Su decreto reglamentario del 25 de setiembre de 1956, Editorial MEA, Montevideo, 1961 p. 1-30.
8. SMITH, R.F. Pesticides: their use and limitations in pest management. In proceedings of a Conference Held at North Carolina State University. Raleigh, North Carolina, USA, 1970, p. 227-242.
9. STONE, B.F. and HAYDOCK, R.P. A method for the cattle tick *Boophilus microplus* (Can.) Bull. Entomol. Res. 53: 563 - 578, 1962.
10. TAHORI, A. Acaricides and resistance of ticks to acaricides. In proceedings of a workshop on the ecology and control of ectoparasites on bovines in Latin America, Serie CE - 13, Cali, Colombia, CIAT, 1978.
11. WHITNALL, A.B. and BRADFORD, B. An arsenic resistant tick and its control with ammxane dips. Bull. Entomol. Res. 38: 353 - 372, 1947.
12. WILSON, J.T. The development of the larval packet test at the Rubino Institute as a method for determining the resistance of *Boophilus microplus* to acaricides in Uruguay. Report for the Government of Uruguay, 78 - 008, May, 1979.
13. WILSON, J.T. Test del paquete larvario. Curso sobre manejo de bañaderos y métodos de estudio de resistencia a los garrapaticidas. MAP, FAO, 9/11 a 12/12 de 1981.

Identifique sus Productos con una Marca.



MARCAS E INVENCIONES

OFICINA ESPECIALIZADA EN REGISTROS, VIGILANCIA Y DEFENSA LEGAL DE MARCAS DE FABRICA Y COMERCIO, PATENTES DE INVENCION Y MODELOS INDUSTRIALES EN EL URUGUAY Y EN TODOS LOS PAISES DEL MUNDO



**AV. URUGUAY 2049
TEL. 49 36 02**

INTERNATIONAL PATENT AND TRADEMARK AGENCY