



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Escuela Nacional de Estudios Profesionales
"IZTACALA"

"DETERMINACION DEL EFECTO DEL BUTOXIDO DE PIPERONILO
COMO SINERGISTA DE IXODICIDAS DE USO COMERCIAL CONTRA
Boophilus microplus"

T E S I S

Que para obtener el título de:

B I O L O G O

P r e s e n t a :

Fernando Porfirio Monroy Godínez

1982



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A MIS PADRES.

José y María

A MIS HERMANOS.

Conchita

Lulú

Yimmy

Pitty

Puche

A LOS CHAVOS DEL DEPTO. 16.

A G R A D E C I M I E N T O S

Es realmente sorprendente el número de personas que intervienen tanto directa como indirectamente en la realización de algún trabajo por más modesto que este sea. Obviamente, - deseo no cometer ninguna omisión, y si eso sucede, pido de antemano sinceras disculpas por ello.

Quiero agradecer al MVZ. Jacinto Treviño R. su dirección - y asesoramiento.

Al MVZ. Jorge Aguirre E. por sus indicaciones y sugerencias en la metodología experimental.

A mis compañeros del Departamento de Pruebas Biológicas - del Centro Nacional de Parasitología Animal, su colaboración durante la realización del trabajo.

Al Ing. Ind. Jorge Fernandez M. su ayuda en el análisis estadístico, lo mismo que al Actuario José Luis Nava B.

A la M en C. Cristina Cramer H. cuyos consejos y algunas - veces regaños, me motivaron a seguir adelante.

Al MVZ. Francisco Berruecos V. por las correcciones en la redacción final.

Asi mismo a la Srita. Mercedes Rojas su ayuda en la escritura a maquina.

C O N T E N I D O

- RESUMEN.
- I. INTRODUCCION.
- II. JUSTIFICACION DEL TRABAJO.
- III. OBJETIVO.
- IV. HIPOTESIS DE TRABAJO.
- V. MATERIAL Y METODOS.
- VI. RESULTADOS.
- VII. DISCUSION.
- VIII. CONCLUSIONES.
- IX. BIBLIOGRAFIA.

R E S U M E N

Se evaluó la acción sinérgica del butóxido de piperonilo (BP) en combinación con un garrapaticida organofosforado (Chlorfenvinphos) y otro perteneciente a la familia de los piretroides (Cyprothrin) sobre hembras adultas Boophilus microplus provenientes de una cepa susceptible perfectamente caracterizada en el Centro Nacional de Parasitología Animal. Los bioensayos preliminares fueron con el objeto de conocer el comportamiento de los ixodícos empleándose 7 diluciones. Una vez caracterizados ambos productos se procedió a combinarlos con el BP tomando como base las concentraciones de inhibición de eclosión de cada uno de ellos con 10 partes de sinérgica o sea una relación constante de 1: 10. La técnica utilizada fué la de inmersión de hembras adultas la cual es recomendada por el Fondo para la Agricultura y la Alimentación de las Naciones Unidas (FAO). El análisis estadístico se fundamentó en la metodología probit.

La evaluación de los resultados se realizó con base en la inhibición de oviposición y de la eclosión. Para cada dilución se utilizaron 5 lotes de 10 garrapatas, lo mismo para los lotes testigo; empleándose un total de 260 lotes en la prueba. El resultado de combinar el BP con el Chlorfenvinphos mostró antagonismo tanto en las concentraciones de inhibición de oviposición (CI0) como en las de eclosión (CIE), obteniéndose los valores de CI0 90 y 99% de 0,011847 y 0,0522 en comparación con 0,002577 y 0,006166 los cuales se

obtienen usando el organofosforado solo. El antagonismo mostrado en la eclosión fué de 0.008594 y 0.012106, a diferencia del ixodicida solo el cual fué de 0.001679 y 0.003833 respectivamente. Mientras que con el Cyprothrin el sinergismo fué patente tanto en C10 como en C1E, lograndose para la C10 90 y 99% 0.0121155 y 0.090616; para la C1E no se obtuvo ningún valor, ya que no hubo eclosión de las larvas. Los valores del Cyprothrin solo fueron de 0.08305 y 0.90079 para C10 90 y 99%. En C1E 90 y 99% fué 0.008986 y 0.031926 respectivamente. Lo anterior nos llevó a implementar un modelo matemático que explicara la acción del sinergista y del piretroide uno en función del otro, ya que el análisis probit solamente toma la respuesta de la combinación como una acción conjunta.

Resultando la concentración de 0.25% de BP la que mostró un sinergismo mayor, siendo la C10 50% 000013, mientras que para el ixodicida solo es de 0.00445. El combinar un sinergista derivado del metilendioxifenilo con el piretroide Cyprothrin nos ofrece una opción en el combate de Boophilus microplus. Indicandonos esto que la utilización de los sinergistas es específico de algunas familias de ixodicidas, y que su uso debe de manejarse con sumo cuidado.

1.- INTRODUCCION

Las garrapatas pertenecientes a la Superfamilia Ixodoidea representan en todos sus estados a un grupo de artrópodos hematófagos altamente especializados, parásitos obligados de anfibios, reptiles, aves y mamíferos (4, 17, 51). Esta Superfamilia agrupa tres Familias: Argasidae, Ixodidae y Nuttalliellidae (4). De las cuales las dos primeras tienen importancia económica en la ganadería.

La Familia Ixodidae cuyos representantes son conocidos comúnmente como garrapatas duras debido a que presentan un escudo dorsal fuertemente esclerosado en todos sus estados. Han sido a través de los años el principal problema en las explotaciones ganaderas (25, 37, 51, 52), ocasionando diversos y cuantiosos daños tales como: transmisión de enfermedades a los animales y al hombre, disminución en la producción de leche y carne, parálisis por neurotoxinas de la secreción salival, efectos directos sobre la esfera reproductiva y depreciación de pieles entre otros (1, 4, 5, 36, 37, 52, 71, 74); lo que en conjunto ocasionan pérdidas calculadas en más de 4000 millones de pesos al año (31).

Dentro de la Familia Ixodidae Boophilus representa el Género de mayor importancia Médico-Veterinaria, ya que participa directa o indirectamente en todos los daños antes mencionados, además que transmite Babesia spp. ocasionando la piroplasmosis bovina (36, 71).

La posición taxonómica de Boophilus es la siguiente:

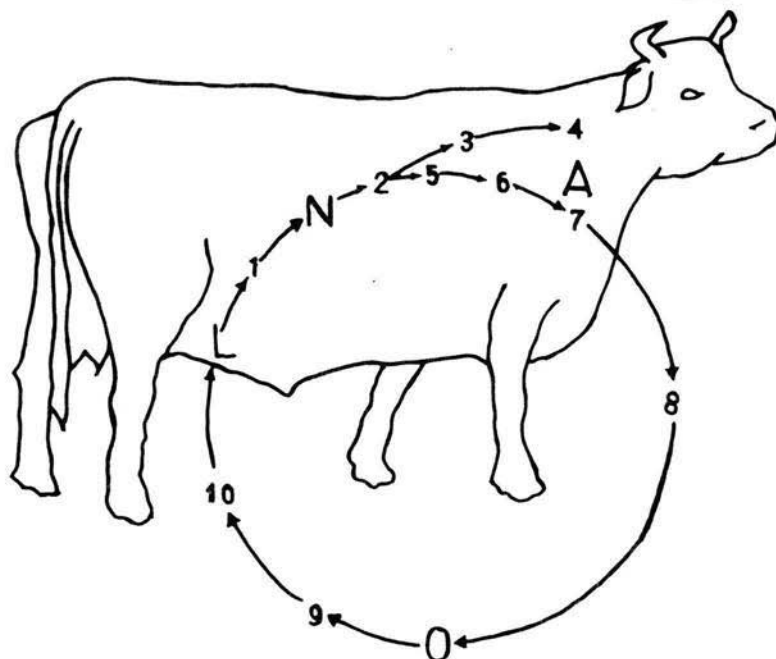
Reino	Animal
Phylum	Arthropoda
Subphylum	Chelicerata
Clase	Acarida
Subclase	Parasitiformes
Orden	Metastigmata
Superfamilia	Ixodoidea
Familia	Ixodidae
Género	<u>Boophilus</u>
Especie	<u>Boophilus microplus</u>

Las garrapatas del Género Boophilus son especies monoxenas que llevan a cabo su ciclo de vida sobre un solo huésped (17, 51). Presentan una alta especificidad con respecto a la selección de su huésped: los bovinos; ocasionalmente, se les ha llegado a encontrar sobre venados, equinos, ovinos, porcinos, caprinos, incluyendo al hombre (3, 36).

Su ciclo de vida consta de cuatro estados de desarrollo: huevo, larva, ninfa y adulto; este posee una fase parásita la cual se realiza sobre el animal y otra no parásita que se lleva a cabo en el suelo. Algunos investigadores mencionan estados intermedios entre los cuatro antes mencionados lo cual ha permitido un mejor conocimiento de la biología de estos ixódidos (Fig. No. 1) (21, 22, 36, 50).

En la fase no parásita las especies de Boophilus se ven afectadas por las condiciones del medio ambiente, principalmente por la temperatura y la humedad relativa (6, 21, 22, -- 36, 68), así como por factores bióticos tales como: depredadores (arañas, aves y especialmente hormigas) los cuales limitan su potencial biótico alterando los períodos de preoviposición, oviposición, incubación, eclosión y sobrevivencia de --

FIGURA No. 1
 CICLO DE VIDA DE Boophilus spp.



ETAPA PARASITA

- L Larva
- 1 Metalarva
- N Ninfa
- 2 Metaninfa
- 3 Neándro
- 5 Neogíña
- 6 Partenogíña
- 4 Gonándro (macho adulto)
- 7 Teleogíña (hembra adulta)

ETAPA NO PARASITA

- 8 Preoviposición
- 0 Oviposición (huevecillos)
- 9 Eclosión
- 10 Larva infestante

larvas (36, 51, 82) . Mientras que en la fase parásita está supeditado directamente a condiciones dependientes de la densidad y del comportamiento del huésped (lamido, rascada y aspectos inmunológicos) (82) .

Desde mucho tiempo atrás ha existido la preocupación de - combatir estos ectoparásitos, los primeros intentos fueron -- realizados con técnicas muy sencillas y sustancias de fácil - adquisición pero debido a lo rudimentario de ellas y a la falta de coordinación en un plan definido de ataque, así como al escaso conocimiento sobre la biología de las garrapatas, este combate resultaba en la mayoría de los casos infructuoso y sumamente laboriosos (2, 5, 47) .

Los métodos usados en el control de estos ixodidos han incluído tanto el control biológico, control cultural, así como el control químico (5, 23,24, 52, 82) .

El control biológico natural llevado a cabo por depredadores así como por huéspedes resistentes mediante el mejoramiento genético efectuado a partir de cruzas entre diferentes razas de bovinos para encontrar razas inmunológicamente resistentes a las infestaciones por garrapatas, a nivel de programas de control no ejercen un efecto significativo sobre la población como para llegar a constituir un método efectivo de control - (12, 52, 78) .

En el control cultural (o prácticas culturales) se trata de romper el ciclo de vida del parásito, ocasionando que la - mayoría de las larvas mueran por inanición ya sea por su exposición a condiciones adversas del medio ambiente o alteracio-

nes del microhabitat por medio de la rotación de pastizales, - introducción de pastos, mediante medios mecánicos o bien aplicando herbicidas (12, 23, 82).

El control químico llevado a cabo por soluciones garrapaticidas (ixodicidas) es hoy en día el método de control más -- utilizado ya que sus resultados se obtienen en un lapso de --- tiempo muy corto en comparación con los otros dos tipos de control antes mencionados; aunque es inminente la necesidad del - uso de varios grupos de acaricidas debido al desarrollo de cepas resistentes a diferentes productos (12, 23, 35, 40, 82).

Realmente, un control químico efectivo contra estos áca-- ros comenzó a finales del siglo pasado y principios de éste en Sudáfrica y Australia con el empleo de soluciones arsenicales-- en baños de inmersión para el ganado (2, 23, 25). Así tenemos que una gran variedad de compuestos químicos se han usado a -- través de los años para combatir esta plaga y que van desde el arsénico, el derris, la nicotina bruta o como sulfato nicotíni-- co, el pelitre, los hidrocarburos clorados en sus tres series-- (DDT, hexacloruro de benceno y clordano), hasta los organofos-- forados y carbamatos los cuales hacen su aparición en la déca-- da de los años 50 al demostrarse en las garrapatas la resisten-- cia hacia el DDT (1, 12, 23, 24, 39).

En la actualidad en México y otros países los organofosfo-- rados ocupan un lugar preponderante entre los pesticidas más - conocidos, siendo los productos más utilizados en el control - de las garrapatas (2, 12, 74). El desarrollo de esta clase de

compuestos data desde 1938 y fué el investigador alemán --- Schrader, el primero en trabajar con estos productos (18, 65, 66). La aceptación de estos compuestos ha sido muy amplia de bido a que reúnen ciertas características que los aventajan - sobre otros, como son: una baja toxicidad para los mamíferos- ya que generalmente suelen metabolizarse y eliminarse rápida- mente del organismo y; de que en el ambiente se degradan a me tabolitos inofensivos con gran rapidéz, poseen además una --- buena estabilidad química cuando son usados en baños de in-- mersión (2, 5, 77).

Cuando se emplean con frecuencia se llega a presentar re sistencia a estos acaricidas. En algunos países como Australia, Sudáfrica, Argentina y Brasil se ha observado que las -- garrapatas han sido capaces de presentar resistencia a estos- compuestos debido a que en dichos lugares se han dado las con diciones para dar lugar a este fenómeno genético; tales como- una fuerte presión de selección ejercida por dichos productos y problemas por el manejo inadecuado de los mismos por lo que es fácil suponer que tales condiciones se puedan presentar - en nuestro país por lo cual se tendría que cuidar y prevenir- cualquier manejo inadecuado que favorezca su posible apari--- ción (22, 37, 39, 41, 58, 73).

La introducción de los insecticidas basados en ésteres - del ácido fosfórico y carbamatos en la industria agropecuaria determinó cambios decisivos respecto a efectos secundarios no deseados, tal como se presentan por la aplicación de los hi-- drocarburos clorados. Estos productos han sido tema de mu--- chas investigaciones para evaluar su eficacia la cual ha sido

medida en diversos trabajos de laboratorio y campo (1, 2, 19, 38, 53, 74).

Mediante una gran cantidad de estudios se ha demostrado que los ixodicidas organofosforados son tóxicos para los ácaros debido a la capacidad que tienen para interferir el mecanismo normal de la acción enzimática de la colinesterasa sobre la acetilcolina, provocando un estímulo continuo (19, 30, 34, 38, 65, 74). En garrapatas las fibras colinérgicas quedan restringidas al sistema nervioso central, denominado Singanglión y no las encontramos a nivel periférico lo que hace que estos productos presenten un gran efecto tóxico.

La toxicidad de los compuestos organofosforados va a depender de que en su fórmula estructural contenga la forma "tio" ó la forma "oxo". Esto significa que algunos organofosforados contienen la forma "tio" (P=S), pero al penetrar al organismo generalmente se oxidan convirtiéndose en compuestos más tóxicos (P=O). O sea que hay una activación del producto (18, 26, 66, 77).

En los últimos 12 años el uso de otros ixodicidas ha cobrado un gran interés por parte de muchos investigadores que se han dado a la tarea de probar nuevos productos químicos (8, 55, 58). Dentro de éstos estan los piretroides los cuales se desarrollaron a partir de las piretrinas naturales y piretros sintéticos (27, 65). El desarrollo de estos productos tiene sus inicios con Staudinger y Ruzika, los cuales a partir de las inflorescencias del Chrysanthemum coccineum y el ---

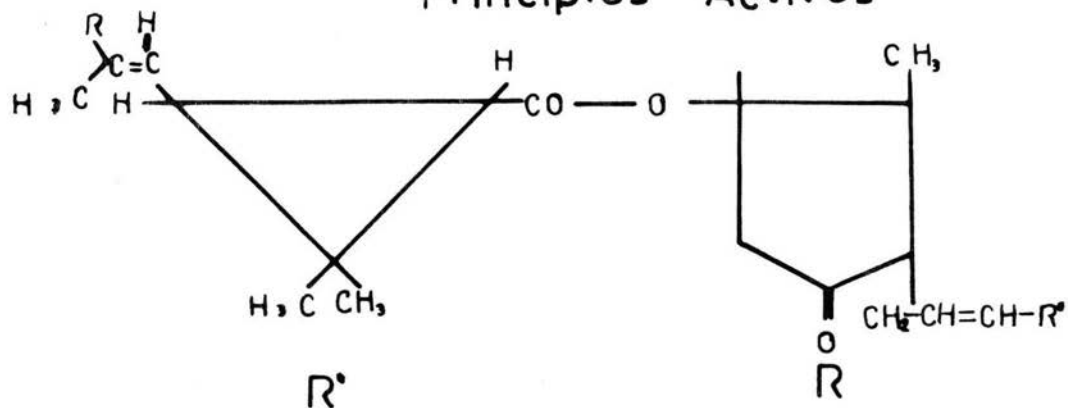
C. cinerariaefolium aislaron e identificaron a las piretrinas que son el principio activo de los piretros. Estos principios poseen en su fórmula estructural dos ácidos y dos alcoholes; los ácidos son el crisantémico (a) y el pirétrico (b), y los alcoholes son la piretrolona (a) y la cinerolona (b) tal y como se aprecia en la Fig. No. 2 (28, 29, 65, 69, 75).

Los mecanismos de toxicidad de los piretroides no están bien establecidos, sin embargo se sabe que son muy tóxicos -- para los insectos actuando a nivel de sistema nervioso central y periférico dando lugar a una rápida parálisis llamada "efecto de derribe" a diferencia de la baja toxicidad para mamíferos y plantas (8, 41, 59, 80). En garrapatas los piretroides provocan al igual que en otros artrópodos un efecto paralizador el cual hace que éstas se desprendan de sus huéspedes rápidamente, alterando su fisiología sin causar la muerte (16, 76).

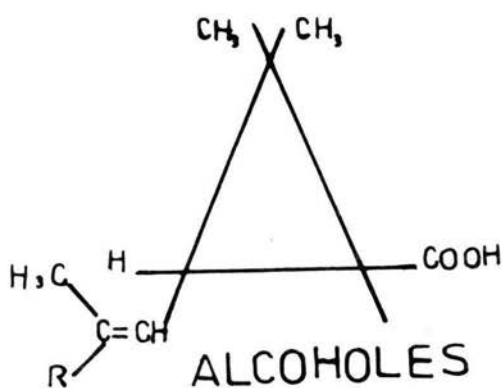
Como puede observarse en el cuadro No. 1, para que se produzca el efecto de bloqueo en el sistema nervioso y consecuentemente la muerte del ácaro, se deben presentar ciertos eventos con lo cual la detoxificación por el sistema enzimático correspondiente no se llevará a cabo. La detoxificación a piretroides se realiza por: esterases, mediante hidrólisis-esterásica y por oxidasas de función mixta (OFM) mediante mecanismos oxidativos (46, 49, 77). Una evidencia de que los piretroides son detoxificados fácilmente es que compuestos de este tipo al ser combinados con el butóxido de piperonilo -- (agente antioxidante) retardan su tiempo de acción y conse---

FIGURA No. 2

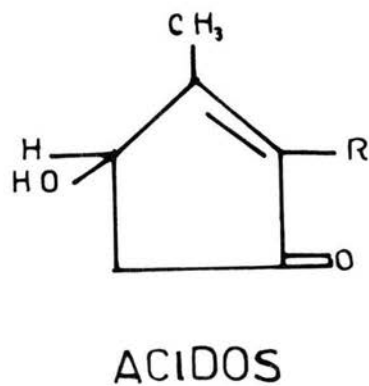
Principios Activos



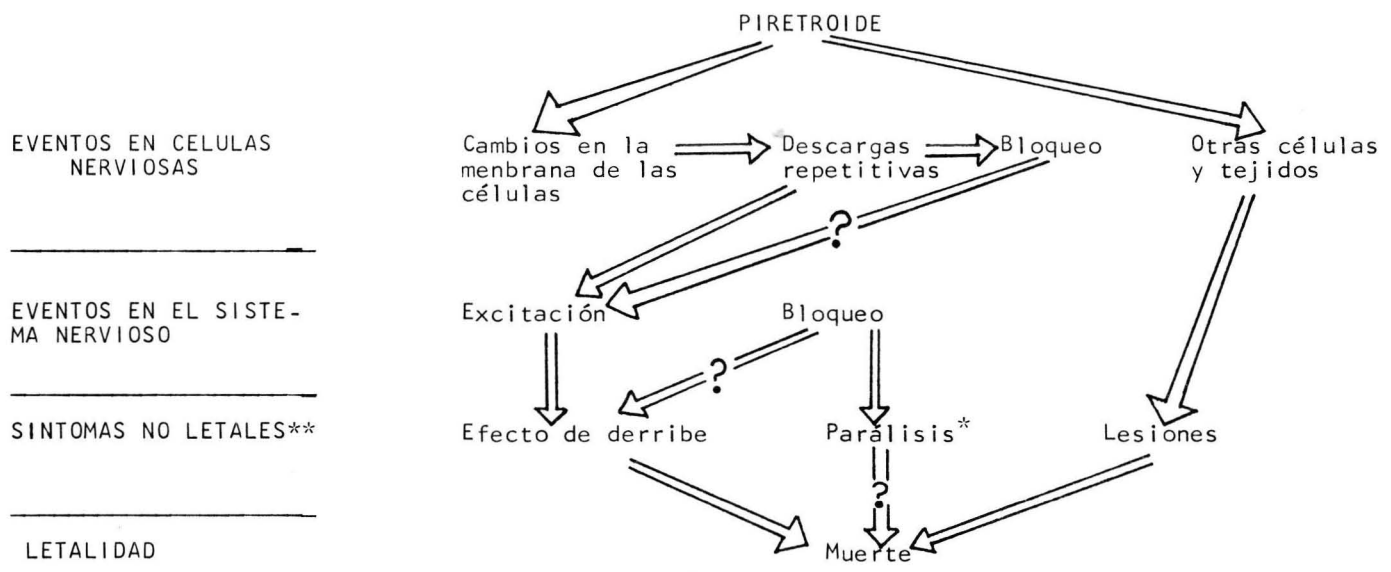
PIRETRINA I	$\text{CH}=\text{CH}_2$	$-\text{CH}_3$
PIRETRINA II	$\text{CH}=\text{CH}_2$	$-\text{CO}_2\text{CH}_3$
CINERINA I	CH_3	$-\text{CH}_3$
CINERINA II	CH_3	$-\text{CO}_2\text{CH}_3$



- a. - $\text{R} = \text{CH}_3$
- b. - $\text{R} = \text{COOCH}_3$



- a. - $\text{R} = \text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}_2$
- b. - $\text{R} = \text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_3$



* La parálisis por si misma no es fatal, sin embargo una parálisis prolongada causa una patología sistémica mayor, directa ó indirectamente (13).

** A este nivel entran en juego los sistemas de detoxificación, no permitiendo (siempre y cuando la concentración del toxico no sea elevada) la muerte del acaro.

cuentemente se alcanza un mayor efecto tóxico (61).

Con este tipo de productos se han realizado investigaciones sobre la garrapata café del perro Rhipicephalus sanguineus en donde el efecto de mortalidad se presenta después de 24 -- horas de la aplicación alcanzando una alta mortalidad. Además la concentración letal 50 % está en orden de 10^{-4} y para los acaricidas organofosforados esta dosis es mucho mayor (11).

La posibilidad de usar estos productos como garrapaticidas del ganado es muy prometedora, ya que pruebas realizadas en Australia en baños garrapaticidas para el control de Boophilus microplus, tanto la Cipermetrina (RNDC-149) como el Fenvalerato (S-5602) a una concentración de 0.02 % de ingrediente activo dieron algo más del 99 % de control por un periodo de 21 días y protección a la reinfestación (poder residual) por 9 a 12 días (7, 41).

Resultados de pruebas de laboratorio y campo efectuados en Sudáfrica demostraron que la Decametrina (RNDC-143), la Cipermetrina y la Permetrina fueron efectivos contra garrapatas ixodidas tales como Boophilus microplus, Boophilus decoloratus, Rhipicephalus appendiculatus, Rhipicephalus evertsi y Amblyomma hebraeum (67). Estos productos mostraron también un buen control sobre la cepa "Biarra" resistente a organofosforados, obteniéndose un porcentaje de control de 65 %, 72.4 % y 81.8 % para Decametrina, Permetrina y Cipermetrina respectivamente (58).

Así mismo estos productos han mostrado un efecto mosquicida muy efectivo, especialmente sobre la mosca del establo ---

(Stomoxys calcitrans) y la mosca del cuerno (Haematobia irritans) (16, 69).

Lo anterior deja ver la posibilidad que puedan tener el uso de los piretroides, ya que se usarían a dosis mucho más bajas con un alto grado de eficacia. Aunque el uso futuro de este grupo de compuestos fué puesto en peligro por el hallazgo de que una cepa resistente al DDT también lo fué para estos productos químicos.

Para el control de garrapatas resistentes Boophilus microplus, en Australia se han realizado mezclas de piretroides e ixodicidas organofosforados, dando buenos resultados (58) En nuestro país la combinación de Chlorofenvinphos y Cyprothrin mostró un control completo sobre Boophilus microplus susceptible, lograndose disminuir la cantidad de principio activo considerablemente (1). Por lo que este tipo de mezclas en un momento dado pueden ser útiles en el combate contra estos ectoparásitos.

Las mezclas de insecticidas han tenido diversos fines:

- 1.- Reducción del costo del tratamiento
- 2.- Obtención de efectos que con los productos aislados no se obtendrían, por ejemplo si un componente reduce las poblaciones del parásito violentamente pero tiene un poder residual pobre, y el otro componente manifiesta su acción más lentamente pero con un poder residual más prolongado
- 3.- Disminución de la presión de selección por la combinación de los productos sobre el parásito en comparación de la ejercida por estos aisladamente

4.- Obtener un sinergismo en el cual la actividad combinada de dos componentes exceda a la actividad de los componentes - por separado, y en donde el sinergista ha probado ser muy-poco tóxico (34, 42).

Los sinergistas son aquellos productos químicos que cuando son administrados con un insecticida aumentan su toxicidad a los insectos (15, 42, 63, 83). Estas sustancias químicas -- fueron originalmente buscadas como un medio para incrementar - la actividad insecticida del piretro y para reducir el costo - del control de insectos con este producto natural. De ahí que se diga que la aparición de los sinergistas esta estrechamente relacionado con el piretro (42, 83). Probablemente el primer-caso claro de sinergismo fué en 1935 al descubrirse que el -- aceite de pino incrementaba la eficacia del piretro en asper-- sión para ganado. En 1938 el N-isobutilundecilenamida fué re- conocido como un posible sinergista de piretros (83). Poste-- riormente en 1940 se encontró entre un gran número de aceites- vegetales que el aceite de sésamo aumentaba el efecto insecti- cida de soluciones de piretrinas para moscas caseras (18, 63). En 1942 se descubrió que la efectividad de estos compuestos -- era debido al hecho de poseer dos fracciones metilendioxifeni- lo (1,3-benzodioxol): el sesamín y el sesamolín (18, 42, 43, - 83). En 1947 se introduce el compuesto butóxido de piperonilo el cual ha sido ampliamente usado en aerosoles ^{vs} ~~para~~ moscas ca- seras (78).

El reconocimiento de la importancia de la fracción meti--

metilendioxfenilo para el efecto sinergista condujo a probar cientos de compuestos de este mismo grupo, los cuales fueron sintetizados o aislados de fuentes naturales (15, 42). La fracción metilendioxfenilo (1,3-benzodioxol) representa el centro activo de la molécula ya que pequeñas modificaciones en la estructura de este grupo causa una marcada disminución o pérdida total de la actividad sinergista (15, 43).

Los sinergistas son generalmente de dos tipos:

- 1.- Aquellos que pueden ser análogos estructurales cercanos de los insecticidas y compiten por las enzimas de detoxificación.
- 2.- Aquellos que pueden inhibir las oxidasas de función mixta (OFM) y por lo tanto minimizar la detoxificación del insecticida.

Estos últimos por inhibir las OFM sinergizan a aquellos insecticidas que son detoxificados por enzimas microsomales y antagonizan a aquellos como los fosforotionatos los cuales son activados por estas enzimas (65). Los compuestos derivados del metilendioxfenilo, pertenecen al segundo tipo de sinergistas.

Hay evidencias directas que los sinergistas metilendioxfenilo son substratos para el sistema enzimático microsomal, interfiriendo las oxidaciones biológicas las cuales activan o detoxifican los compuestos químicos dependiendo de su estructura (14, 15, 18, 42, 73).

Por servir como substratos alternativos y por lo tanto como inhibidores competitivos para este sistema, los compues-

tos metilendioxifenilo prolongan la persistencia del ixodicida permitiendo que a una dosis inicial baja sea efectivo (83).--- Estos sinergistas han sido usados con todos los tipos de insecticidas químicos, aunque el poder sinergista de estos compuestos varía dependiendo del grupo químico utilizado (14, 15, 43)

El efecto inhibitorio de los sinergistas metilendioxifenilo sobre el sistema enzimático microsomal así como sus efectos colaterales, nos indica que las garrapatas son vitalmente dependientes de este complejo multienzimático (70).

Dentro de los derivados del metilendioxifenilo tenemos al butóxido de piperonilo (BP), el cual representa en la actualidad al sinergista de insecticidas de mayor uso comercial; utilizado principalmente contra moscas caseras, escarabajos, plagas de productos almacenados, etc. (15, 43).

El BP a concentración de 0.4 % de principio activo contra larvas de garrapatas Boophilus microplus, no mostró ningún efecto tóxico 48 horas después del tratamiento; aunque se ha citado que en garrapatas adultas una concentración del 1 % de principio activo presenta un 80 % de mortalidad (70).

Así mismo una mezcla de piretroide-butóxido de piperonilo a concentraciones de 0.025 y 0.25 % respectivamente mostró ser un efectivo acaricida (60). Y una combinación de 0.3 % de carbaril (sevin) más 0.3 % de butóxido de piperonilo, reveló mediante pruebas de aspersión un 99 % de control de la cepa resistente "Biarra" comparado con el 72 % de control por el carbaril solo (60).

El uso de sinergistas en combinación con diferentes acaricidas puede ofrecernos en un momento dado alternativas en el control de garrapatas; al mismo tiempo su utilización ayudaría a combatir la presentación de cepas resistentes a compuestos organofosforados en nuestro país.

II.- JUSTIFICACION DEL TRABAJO.

El uso de un sinérgista derivado del metilendioxifenilo con un ixodicida piretroide u organofosforado, puede representar una gran ayuda en el combate de las especies de garrapatas de importancia en la industria pecuaria. Esto es debido a que se obtendría un control más efectivo y económico de la plaga. Su utilización como medida alternativa en caso de presentación de cepas resistentes a compuestos organofosforados; además el uso de soluciones sinérgizadas pueden ser benéficas al reducirse la contaminación medioambiental que ejercen los ixodicidas químicos, y por último, podrían facilitar el uso de materiales que cuando son usados solos son demasiado inestables, biodegradables y no persistentes.

III.- OBJETIVO.

Evaluar el butóxido de piperonilo como sinérgista de dos ixodidías, un piretroide y un organofosforado en garrapatas del Género Boophilus. Determinando las - concentraciones de inhibición de oviposición y de eclo sión.

IV.- HIPOTESIS DE TRABAJO.

Ya que el butóxido de piperonilo es un sinérgista, se espera que al combinar este producto con dos ixodi- cías de diferente grupo químico y diferente mecanismo de acción, ocurra un incremento de su efectividad.

V.- MATERIAL Y METODOS.

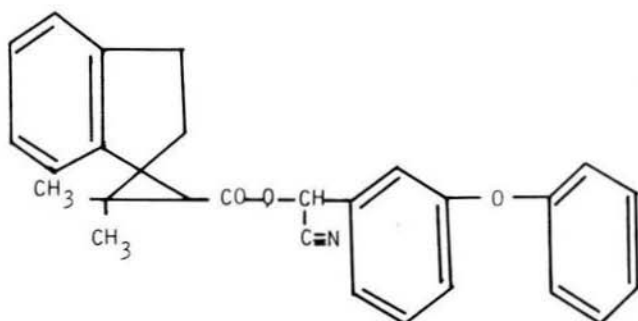
Material biológico.

Se utilizaron garrapatas hembras adultas Boophilus microplus provenientes de una cepa susceptible perfectamente - caracterizada en el Centro Nacional de Parasitología Animal, las cuales se obtuvieron mediante infestación artificial de - bovinos hembra de raza Aberdeen Angus. De las garrapatas ob - tenidas se formaron lotes de 10 garrapatas cada uno con un pe - so promedio de 310 ± 2 miligramos. Para cada dilución se em - plean 50 garrapatas (5 lotes).

Productos Químicos.

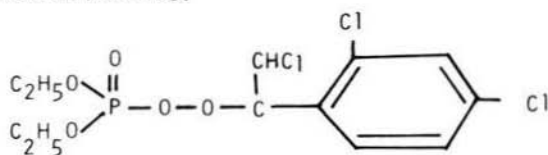
En el desarrollo del presente trabajo se usaron los siguien - tes productos: Cyprothrin, perteneciente a la familia de los - piretroides sintéticos; Chlorfenvinphos, ixodicida organofos - forado del grupo de los vinil fosfatos, y el Butóxido de pipe - ronilo, sinérgista derivado del Metilendioxfenilo (1,3-ben - zodioxol). Se muestran las formulas químicas y estructurales - de los productos antes mencionados.

CYPOTHRIN.



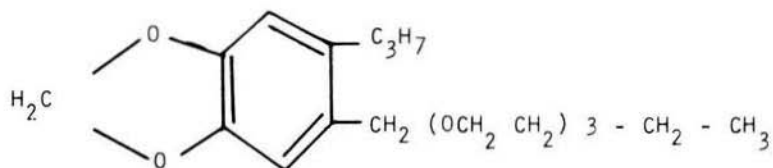
3,3 - dimetil, α - ciano - m - fenoxibenzil ester del ácido espírico (ciclopropano - 1 - 1 - indeno) - 2 - carboxílico.

CHLORFENVINPHOS.



2 - cloro - 1 - (2,4 - Diclorofenil) - Vinil - Dietil - Fosfato.

BUTOXIDO DE PIPERONILO.



Butil 3; 4 Metilendioxi 6 - propilbencil - dietilen - glicol eter.

METODOS

Se realizaron pruebas preliminares para obtener las concentraciones de los ixodicidas que permitieran utilizar el análisis probit en estos bioensayos. De las 7 concentraciones solo fueron utilizadas 5 para obtener un mejor ajuste de la regresión (Cuadro I).

La evaluación de los resultados se basó en la Inhibición de la Oviposición y de la Eclosión.

Se seleccionaron las concentraciones más adecuadas con base se en el porcentaje de Inhibición de Eclosión (Cuadro II).

Para determinar el efecto del Butóxido de piperonilo se llevó a cabo una prueba preliminar entre los ixodicidas y el sinergista, guardando siempre una relación constante de 1:10 de ixodicida:sinergista. Las concentraciones utilizadas se muestran en el Cuadro III.

Las 6 concentraciones escogidas se combinaron con 0.25% y posteriormente con 0.025% de Butóxido hasta tener 24 diferentes combinaciones (Cuadro IV). Se utilizaron 5 lotes de 10 garrapatas en cada combinación y 15 lotes fueron para grupos testigos.

C U A D R O I.

Concentraciones utilizadas en el Análisis probit preliminar.

ORGANOFOSFORADO (%)	PIRETROIDE (%)
0.0030	0.015
*0.001875	0.0075
0.0015	0.00375
0.0010	0.001875
*0.00093	0.0015
0.00075	*0.0009375
0.000375	*0.00075

* Concentraciones excluidas del Análisis probit.

C U A D R O II

Concentraciones seleccionadas al analizar las CIE de los dos ixodicidas.

ORGANOFOSFORADO(%)	CIE	PIRETROIDE(%)	CIE
0.00513	99%	0.03193	99%
0.00195	90%	0.00898	90%
0.00097	70%	0.00358	70%
0.000597	50%	0.001897	50%
0.000368	30%	0.001004	30%
0.000183	10%	0.000401	10%

C U A D R O III.

Concentraciones de sinergista-ixodicida con relación constante de 10-1.

ORGANOFOSFORADO-SINERGISTA

1 - 10

0.003% - 0.03%
 0.001% - 0.01%
 0.0005% - 0.005%
 0.0003% - 0.003%
 0.0001% - 0.001%
 0.00003%- 0.0003%
 0.00001%- 0.0001%

PIRETROIDE-SINERGISTA

1 - 10

0.05% - 0.5%
 0.01% - 0.1%
 0.005% - 0.05%
 0.001% - 0.01%
 0.0005%- 0.005%
 0.0001%- 0.001%
 0.00005- 0.0005%

C U A D R O IV.

Concentraciones de los ixodicidas utilizadas en combinación con 0.25% y 0.025% de Butóxido de piperonilo.

ORGANOFOSFORADO	SINERGISTA	PIRETROIDE
0.003%		0.015%
0.001%	0.25%	0.0075%
0.0005%		0.00375%
0.0003%		0.001875%
0.0001%	0.025%	0.000937%
0.00001%		0.000467%

El lote testigo incluye 3 diferentes grupos: uno tratado con agua destilada, el otro con butóxido de piperonilo en solución acuosa de tritión X-100 al 1%, el cual sirve para disolver el butóxido además de permitir un buen contacto del producto con la superficie de la garrapata, y el último de tritión X-100 en solución acuosa al 1%.

La técnica usada para el tratamiento de las garrapatas fue la de inmersión de hembras repletas propuesta por el Fondo para la Agricultura y la Alimentación de las Naciones Unidas (FAO), la cual consiste en sumergir durante 30 segundos a las garrapatas en las diferentes concentraciones del producto a evaluar, para posteriormente alojarlas en estufas de incubación a 28°C y una humedad relativa de 90% (71).

La determinación de la respuesta de Oviposición se realizó al décimo cuarto día post-tratamiento, tiempo en el cual las garrapatas han efectuado casi en su totalidad la oviposición. En este día se procedió a retirar los huevos ovipositados por las garrapatas y se pesaron por lotes en una balanza analítica, agrupándose después los pesos totales de los distintos lotes usados para cada una de las concentraciones y someterlos al análisis probit.

Para obtener el porcentaje de inhibición de Oviposición (%10) se empleó la fórmula propuesta por Aguirre (3).

$$\%10 = \frac{pgE}{pgT} - \frac{phgE}{phgT} \times 100$$

Donde: pgE = Peso de las garrapatas evaluadas.

pgT = Peso de las garrapatas testigos.

phgE = Peso de los huevos de las garrapatas.

phgT = Peso de los huevos de las garrapatas testigos.

En la determinación de la respuesta de Eclosión, los huevecillos una vez pesados fueron colocados en pequeños frascos de vidrio de 2.5 cm. por 4.5 cm. los cuales se taparon con algodón y se colocaron en la estufa de incubación en condiciones idénticas de temperatura y humedad, para así esperar la eclosión de las larvas. El frasco de los huevecillos 16 días después de la encapsulación se saca de la incubadora y se introduce en un refrigerador a -4°C por 24 horas con el objeto de matar a las larvas. El contenido de los frascos se homogeniza y se toman 10 muestras al azar a las cuales se les analiza completamente mediante el campo visual de un microscopio estereoscópico, anotando eclosionados y no eclosionados.

El cálculo del porcentaje de eclosión se realizó mediante 10 cuentas alicuotas para cada lote, con estos datos se procedió a obtener el Índice Reproductivo (IR), mediante la fórmula propuesta por Drummond (19,23, 24).

$$IR = \frac{\text{gr. de huevecillos}}{\text{gr. de garrapatas}} \times \% \text{ de eclosión} \times 20\ 000 *$$

* No. de larvas que se encuentran en un gramo de huevecillos

Con los datos ya obtenidos de reproducción estimada y mediante la fórmula también desarrollada por Drummond, podemos calcular los porcentajes de control (%C) para cada una de las concentraciones:

$$\%C = \frac{IR \text{ del grupo testigo} - IR \text{ de las tratadas}}{IR \text{ del grupo testigo}} \times 100$$

ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Los datos obtenidos se sometieron al análisis probit, el cual se llevó a cabo mediante un método manual propuesto por Finney (32) y Calderón (10, 47).

Se recurrió a la metodología probit en lugar de los métodos de estadística tradicional, debido a que esta metodología analiza tipos de respuesta con distribución normal; así también el análisis probit se emplea en bioensayos que involucran una situación dosis - respuesta, en las cuales las respuestas son de tipo cuantales (muerto- no muerto, estéril - no estéril, etc.)

Para evaluar la acción interactiva entre las dos preparaciones se tomó como base el modelo propuesto por Hewlett para escarabajos (44).

$$Y = \alpha + \beta_1 \log Z_1 + A(Z_2).$$

Donde: Y significa la respuesta en probits, α y β_1 son parámetros intrínsecos de la ecuación; Z_1 es la concentración del piretroide, y Z_2 la concentración del sinergista y $A(Z_2)$ es una función de la concentración de Butóxido (Z_2) y contiene sus propios parámetros.

VI. R E S U L T A D O S .

Todos los organismos vivos son sistemas dinámicos y su comportamiento y función como entidades biológicas involucran un complejo de reacciones bioquímicas interdependientes, lo que resulta en una integración de sucesos en perfecto balance.

La presencia de un xenobiótico dentro de un organismo vivo, puede alterar rápidamente dicho balance por inhibición u otro tipo de interacción con una ó más de las reacciones mencionadas o bien con alguno de los componentes de los cuales depende esta integridad. Es importante recalcar la necesidad de conocer lo más exactamente posible cuales son las alteraciones que produce el xenobiótico y por otro lado el comportamiento de la población que se escoje para realizar el bioensayo. Debido a la complejidad que esto representa, se hace necesario el contar con técnicas exactas que nos proporcionen datos confiables acerca tanto del comportamiento individual como del poblacional. Así pues una herramienta útil en este caso es el análisis probit, que nos indica la homogeneidad ó heterogeneidad de la respuesta (9, 19, 32).

La regresión obtenida del bioensayo expresa el comportamiento de la población con respecto a los estímulos aplicados sobre ella. La línea de dosis - respuesta, o algunos puntos de ella como son los valores 50 ó 99 % son medidas cuantitativas--

que representan cambios en la respuesta al aplicar el ixodici da (47).

OVIPOSICION :

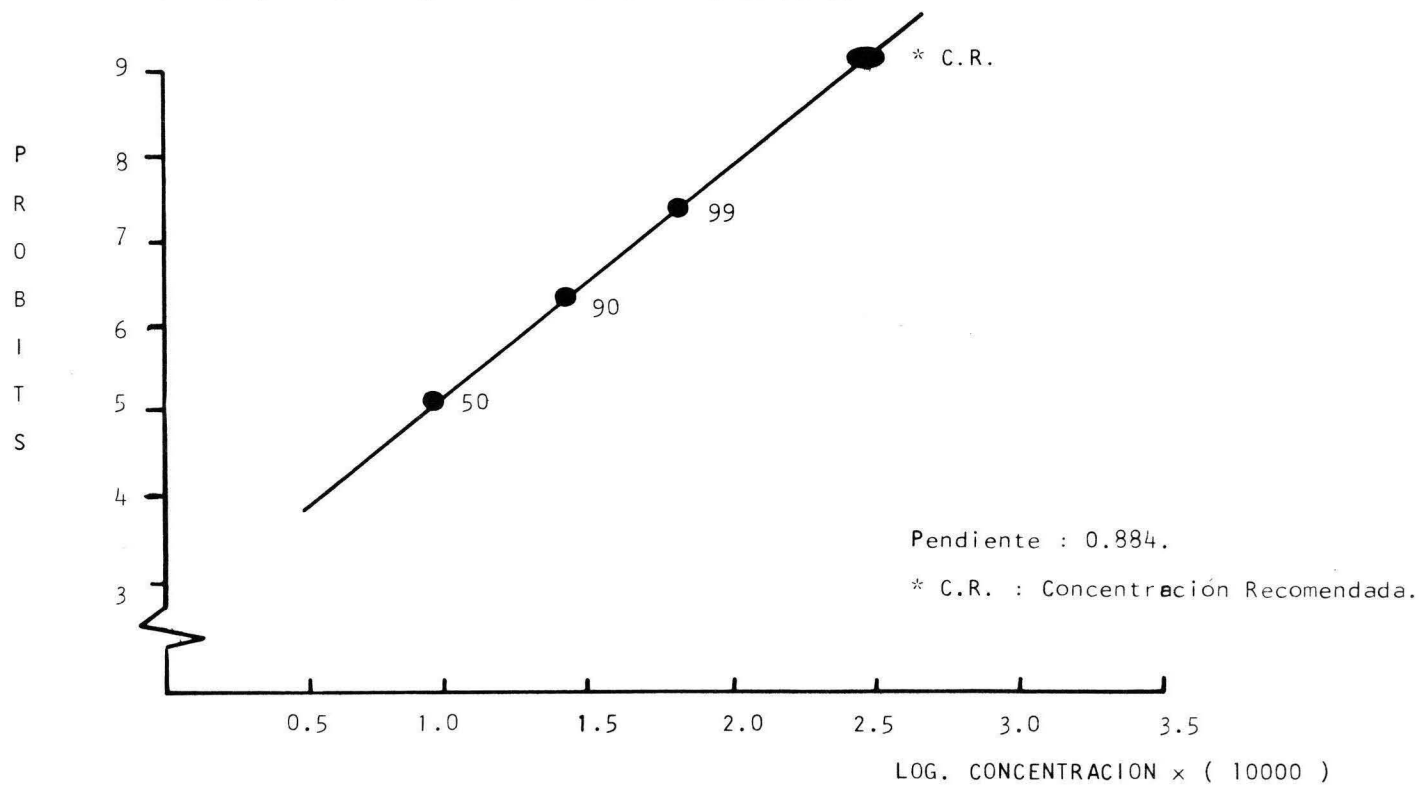
La evaluación de este parámetro de control nos facilita analizar y conocer la cantidad de huevos que permiten -- la supervivencia del parásito y por ende conocer el efecto del producto probado sobre este fenómeno.

En lo referente a este tópico, las Gráficas No. 1 y 2 muestran las concentraciones de Inhibición de Oviposición (CIO) 50, 90 y 99 % así como la Concentración Recomendada - (C.R.) por la casa comercial, las cuales se señalan en la -- línea de dosis- respuesta. Las Gráficas No. 3 y 4 nos ilustran las CIO 50, 90 y 99 % de cada uno de los ixodicias y la combinación 1:10 de ixodici da sinergista, comparándose las -- rectas de regresión de ambos.

Las concentraciones obtenidas para la Inhibición de la Oviposición de los dos ixodicias y la de cada uno de ellos en combinación de 1:10 con el sinergista se señalan en el --- Cuadro V . Mostrándose las CIO 50, 90 y 99 % de la Concentración Recomendada . al pie de cada Gráfica se encuentra el valor de la pendiente de la regresión.

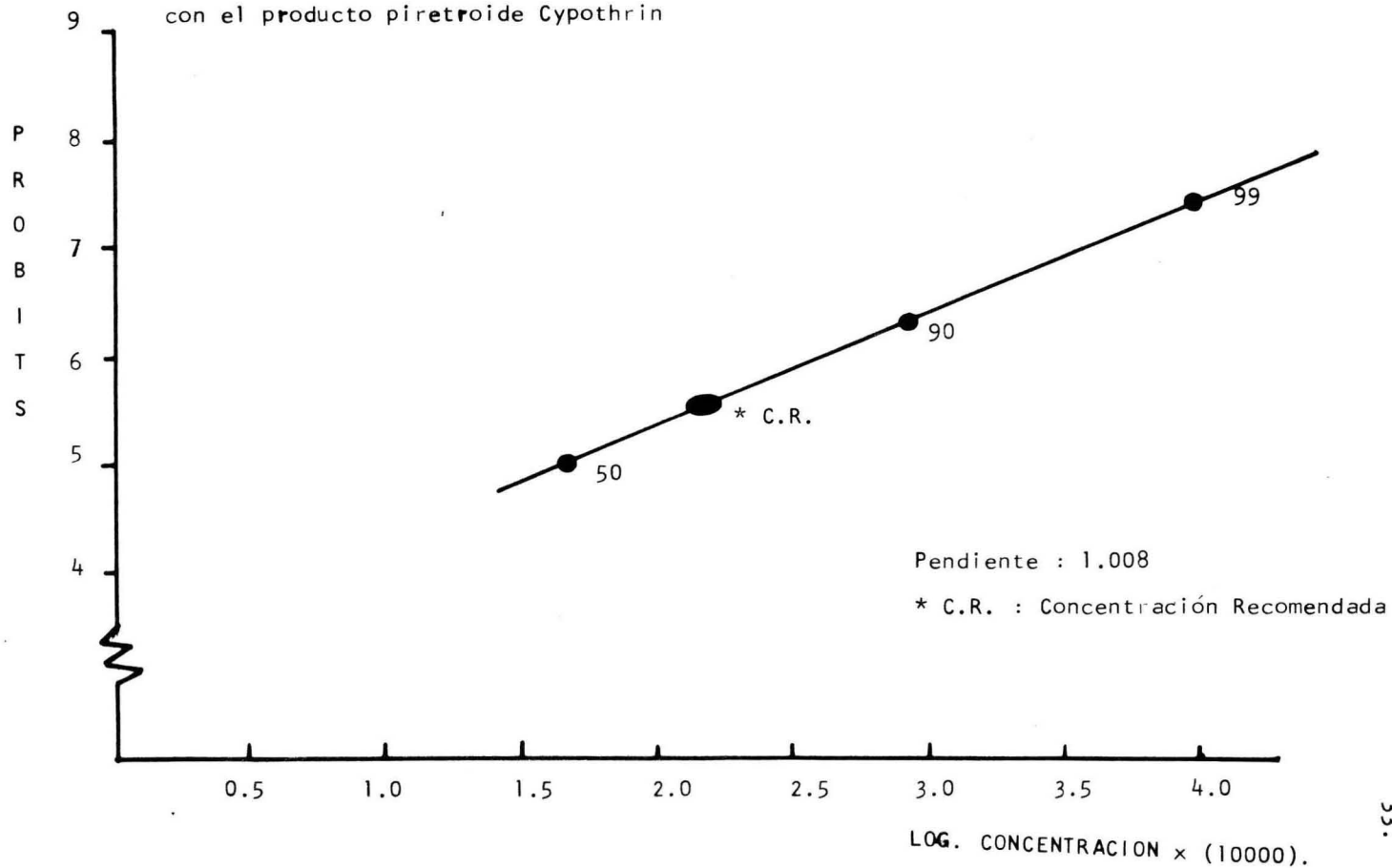
GRAFICA No. 1

Concentraciones de Inhibición de Oviposición (CIO) 50, 90 y 99 %
con el producto organofosforado Chlorfenvinphos.



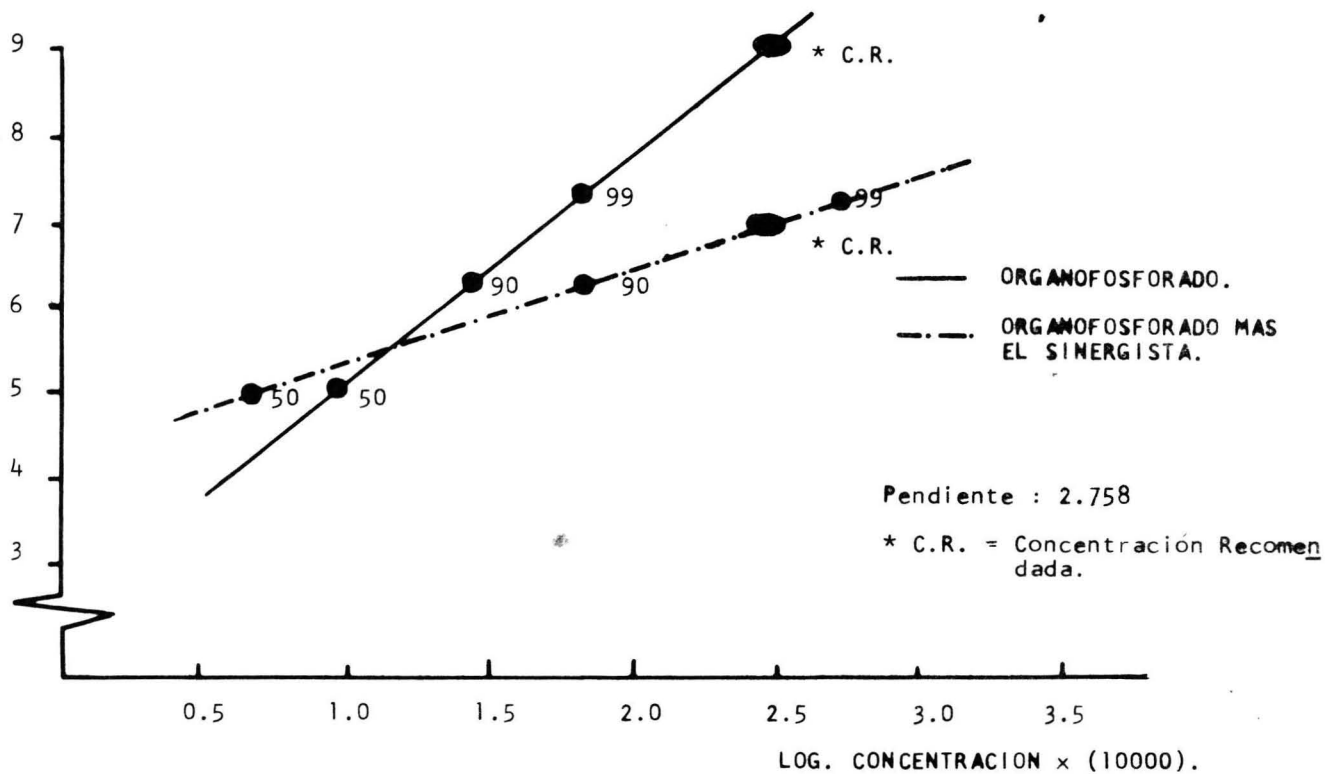
GRAFICA No. 2

Concentraciones de Inhibición de Oviposición (CIO) 50, 90, y 99 %
con el producto piretroide Cyprothrin



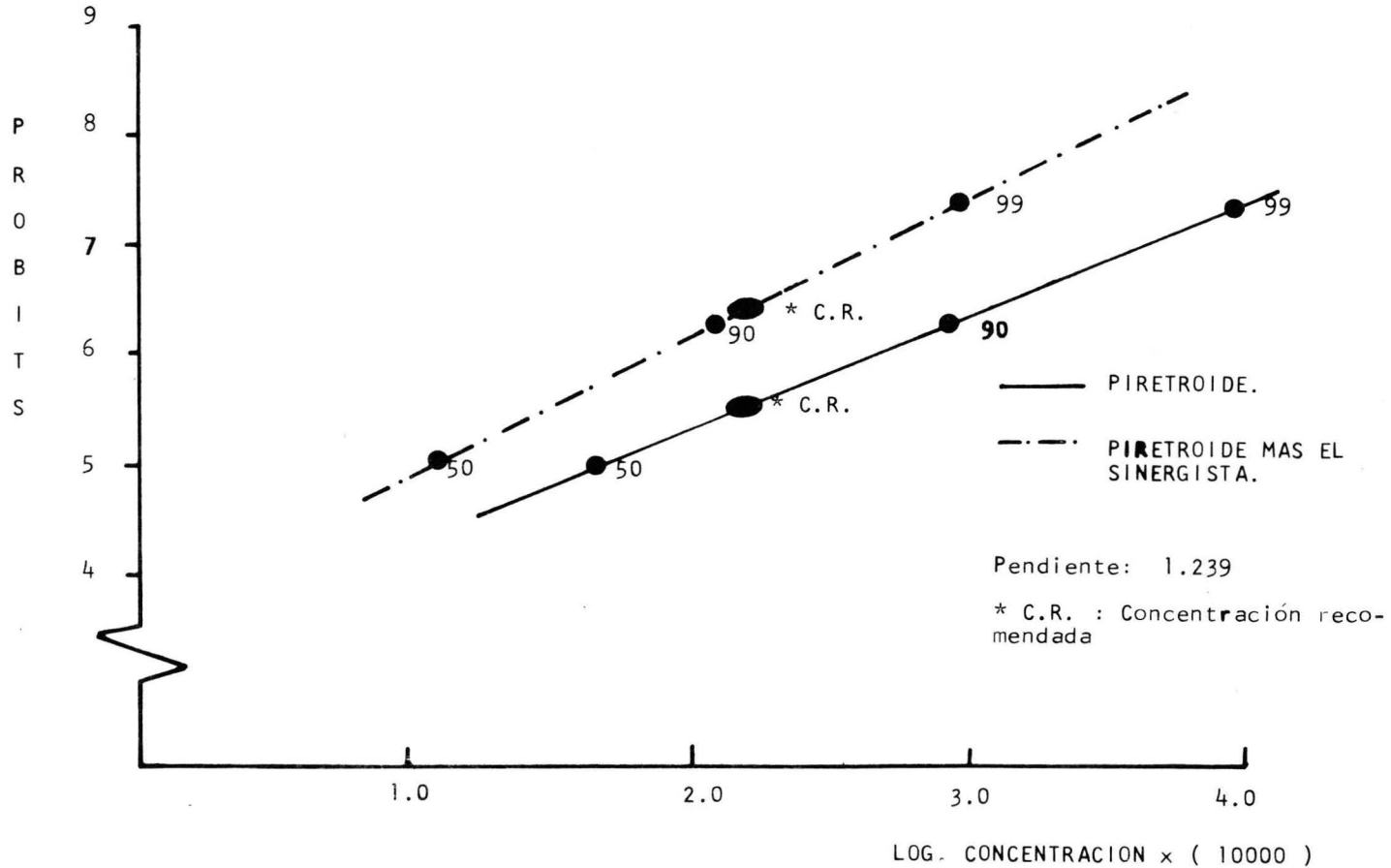
GRAFICA No. 3

Concentraciones de Inhibición de Oviposición (CIO) 50, 90 y 99 % con el producto Organofosforado Chlorfenvinphos y la combinación 1:10 de Chlorfenvinphos más Butóxico de piperonilo.



GRAFICA No. 4

Concentraciones de Inhibición de Oviposición (CI0) 50,90 y 99 % con el producto piretroide Cyothrin y la combinación 1:10 de Cyóthrin más Butóxido de piperonilo.



C U A D R O V.

Concentraciones de Inhibición de Oviposición (CIO) 50,90 y 99% en garrapatas Boophilus microplus tratadas con Chlorfenvinphos, Cypothrin, y la combinación 1:10 de cada uno de ellos con Butóxido de piperonilo.

<u>ORGANOFOSFORADO</u>	CIO	
CHLORFENVINPHOS	50%	0.000884
	90%	0.002577
	99%	0.006166
	*CR	0.030
CHLORFENVINPHOS MAS BUTOXIDO DE PIPERONILO (1: 10).	50%	0.0004223
	90%	0.0118473
	99%	0.0522
	*CR	0.030
 <u>PIRETROIDE</u>		
CYPOTHRIN	CIO	0.00446
	50%	0.00446
	90%	0.08305
	99%	0.90079
	*CR	0.015
CYPOTHRIN MAS BUTOXIDO DE PIPERONILO (1:10).	50%	0.001323
	90%	0.0121155
	99%	0.090616
	*CR	0.015

* Concentración Recomendada.

ECLOSION :

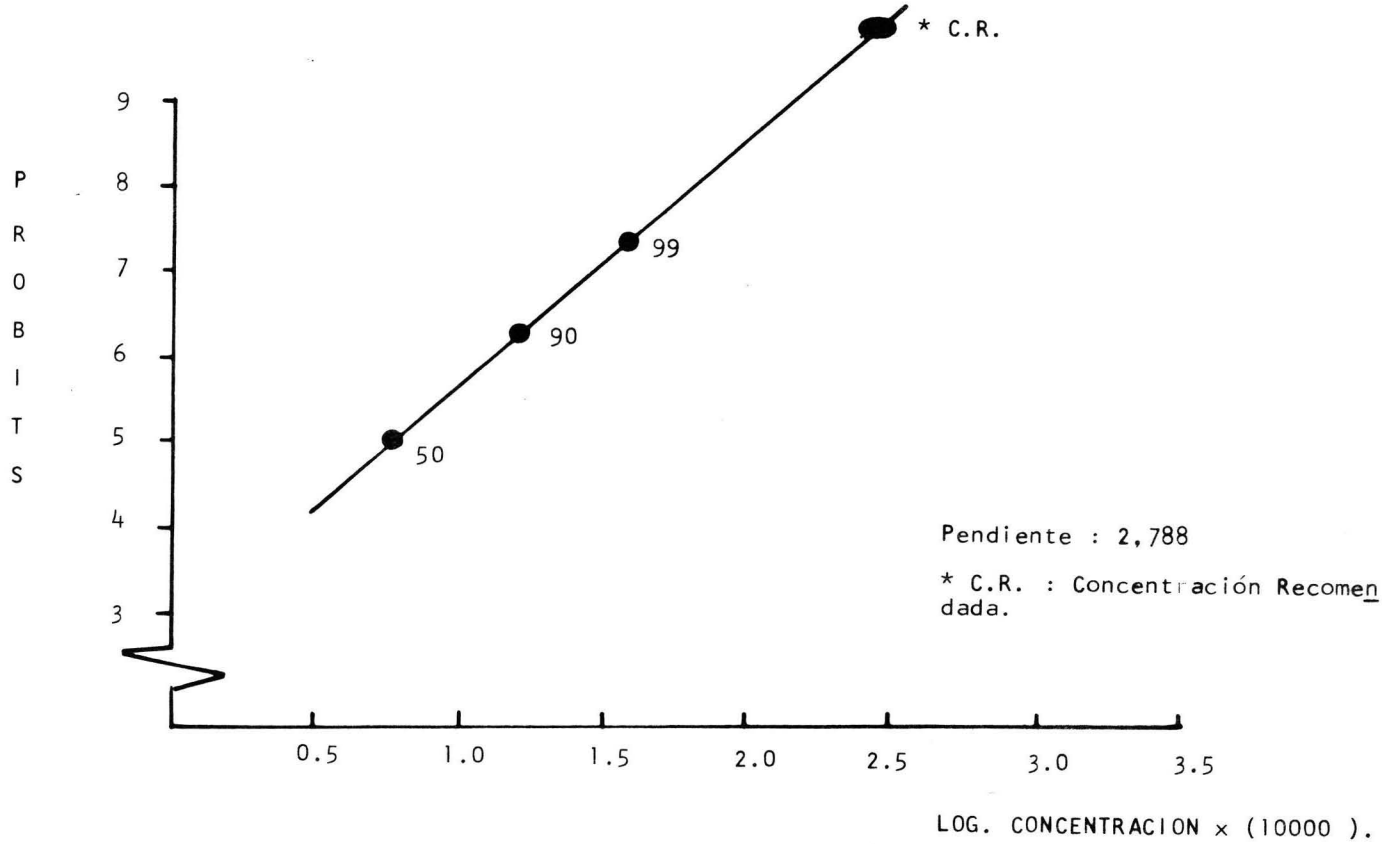
Respecto a este parámetro, en la Gráficas No. 5 y 6 se presentan las líneas de regresión en las cuales se localizan las concentraciones de Inhibición de Eclosión (CIE) --- 50, 90 y 99 % y la Concentracion Recomendada por la casa comercial.

La Gráfica No. 7 muestra la comparación entre la -- línea de dosis respuesta obtenida con el producto solo y aquella con el producto más el sinergista con relación de 1:10 -- No hubo comparación entre la CIE del piretroide y la de este más el sinergista, ya que no hubo eclosión de los huevecillos

El Cuadro VI nos muestra las Concentraciones de Inhibición de Eclosión (CIE) de los ixodicidas y la de estos con el sinergista. Señalándose las CIE 50, 90 y 99 % y la -- Concentración Recomendada.

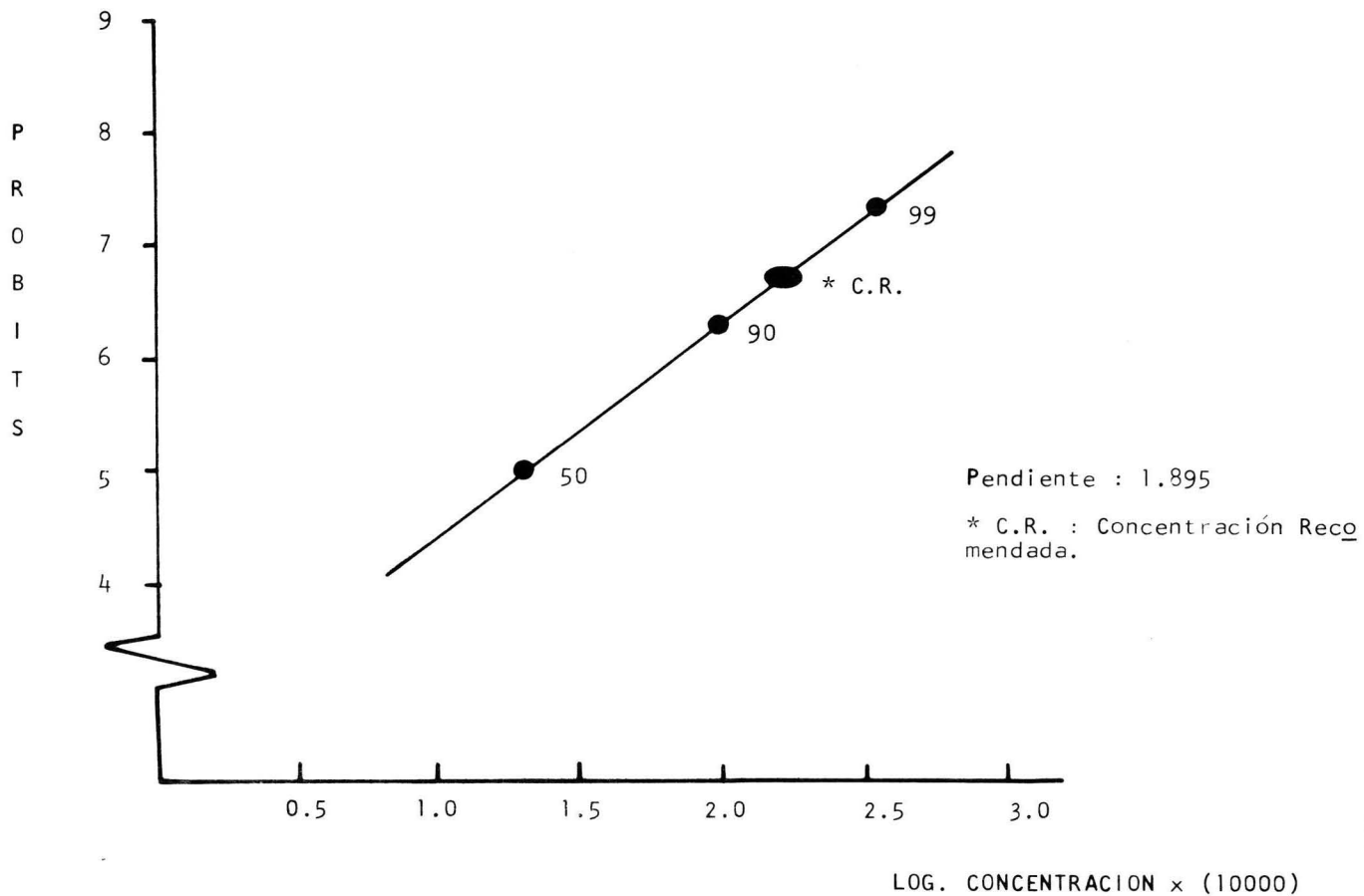
GRAFICA No. 5

Concentraciones de Inhibición de Eclosión (CIE) 50, 90 y 99 % con el producto organofosforado Chlorfenvinphos.



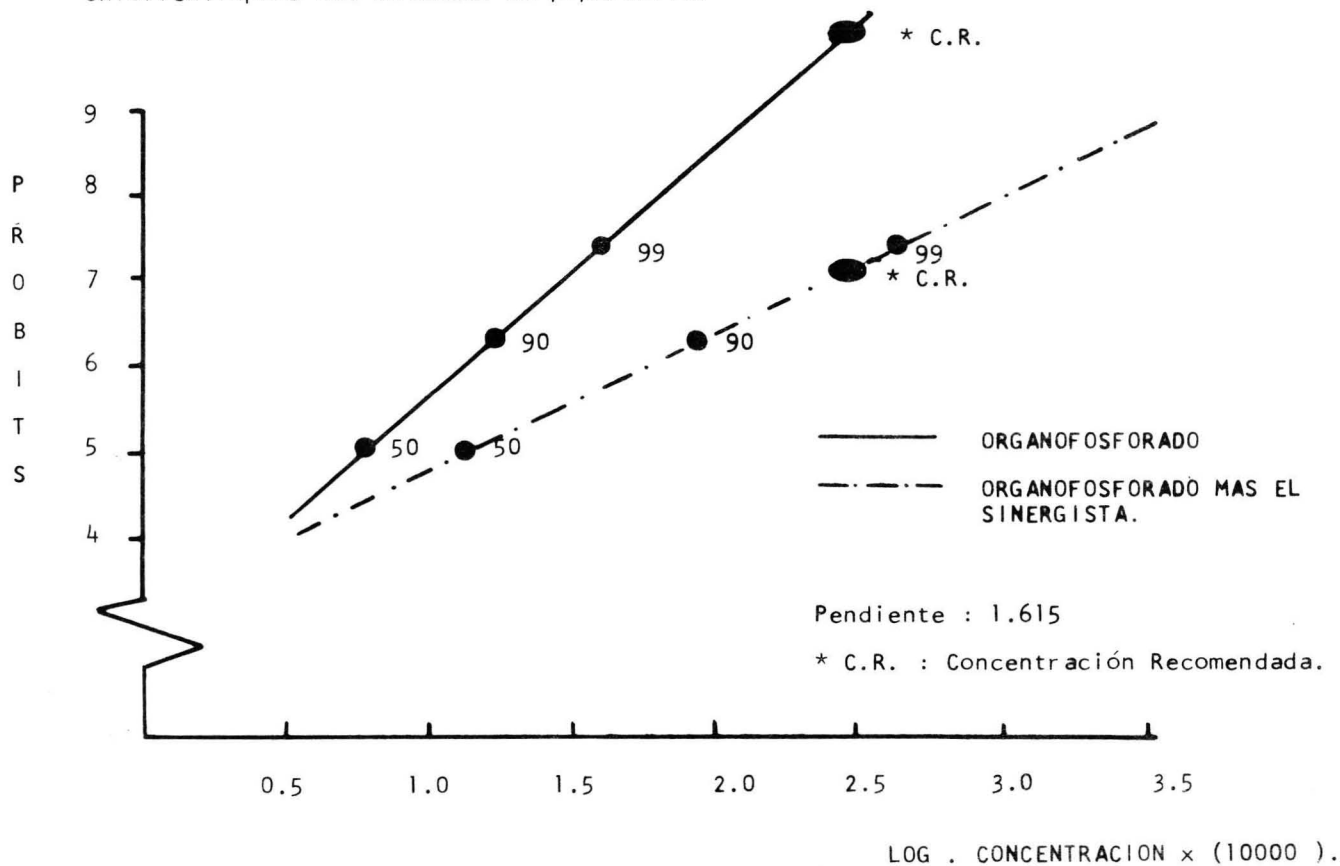
GRAFICA No. 6

Concentraciones de Inhibición de Eclósión (CIE) 50, 90 y 99 % con el producto piretroide Cypothrin.



GRAFICA No. 7

Concentraciones de Inhibición de Eclosión (CIE) 50, 90 y 99 % con el producto organofosforado Chlorfenvinphos y la combinación 1 :10 de --- Chlorfenvinphos más Butóxido de piperonilo.



C U A D R O VI.

Concentraciones de Inhibición de Eclosión (CIE) 50,90 y 99% en garrapatas Boophilus microplus tratadas con Chlorfenvinphos, Cypothrin, y la combinación 1:10 de cada uno de ellos con Butóxido de piperonilo.

<u>ORGANOFOSFORADO</u>	<u>CIE</u>	
CHLORFENVINPHOS.	50%	0.0005627
	90%	0.001619
	99%	0.003833
	*CR	0.030
CHLORFENVINPHOS MAS BUTOXIDO DE PIPERONILO (1:10).	50%	0.0013868
	90%	0.0085941
	99%	0.012106
	*CR	0.030
<u>PIRETROIDE</u>	<u>CIE</u>	
CYPOTHRIN	50%	0.001897
	90%	0.008986
	99%	0.031926
	*CR	0.015

* Concentración Recomendada.

Cabe aclarar que los resultados antes mencionados se hicieron empleando una relación constante (1:10) entre ixodidica : sinergista, con el objeto de determinar si el Butóxido de piperonilo ejercía su efecto en los dos productos ya que como cita la literatura, al emplear este tipo de combinaciones puede presentarse sinergismo (como en el caso del piretroide) ó un efecto antagonista ó sinergismo negativo (el caso del organofosforado).

A partir de los resultados en donde se demostró que el Butóxido de piperonilo realmente sí es un sinergista del piretroide Cyprothrin , no siendo para el producto organofosforado Chlorfenvinphos se procedió a determinar el comportamiento del Butóxido así como a encontrar una posible relación que nos indicara el efecto del sinergista sobre el piretroide . Esto es debido a que en los resultados anteriores únicamente se --- toma el logaritmo de la concentración, el cual se representa - en el eje de las X como una acción conjunta en el cual se in-- cluye tanto el efecto ejercido por el sinergista como el del - piretroide. De ahí que se proponga el siguiente modelo para - evaluar el efecto del Butóxido de piperonilo, así como la res- puesta que obtendríamos al variar una de las dos concentracio- nes .

Este modelo solo se aplicó al piretroide ya que fué el ixodidica que presentó sinergismo, que era lo que se preten- día en el presente trabajo.

MODELO PARA EXPLICAR LA ACCION SINERGISTA DEL
BUTOXIDO DE PIPERONILO SOBRE EL PIRE--
TROIDE CYPOTHRIN.

I.- ANALISIS PROBIT APLICADO AL PIRETROIDE Cyprothrin EN COMBINACION CON 0.25% Y 0.025% DE BUTOXIDO DE PIPERONILO.

0.25% DE BUTOXIDO DE PIPERONILO

$$S_{xx} = 23.227$$

$$S_{xy} = 18.62$$

$$S_{yy} = 15.835$$

$$X = 1.255$$

$$Y = 5.901$$

$$b = 0.8016$$

$$x^2 = 0.908$$

$$m = 0.117/100000 = 0.0000131.$$

0.025% DE BUTOXIDO DE PIPERONILO

$$S_{xx} = 17.81$$

$$S_{xy} = 17.90$$

$$S_{yy} = 20.39$$

$$X = 1.174$$

$$Y = 5.93$$

$$b = 1.005$$

$$x^2 = 2.399$$

$$m = 0.396/100000 = 0.0000249$$

A continuación se citan diversos trabajos en los cuales se ha aplicado el análisis probit, así como bibliografía - referente al tema. (10, 19, 32, 33, 42, 47).

11.- DESARROLLO DEL MODELO .

Graficando probit contra log-piretroide para cada dosis de Butóxido de piperonilo (BP) se observó que para una concentración dada de BP, se obtenía una relación lineal (Gráfica No. 8).

Esto implica que la relación entre probit, piretroide y BP es de la forma :

$$Y = a + b_1 \log Z_1 + A (Z_2) \text{ -----(1).}$$

Donde Y es probit, Z_1 es la concentración del piretroide y a y b_1 son parámetros. $A (Z_2)$ es una función de la concentración de BP . Z_2 contiene sus propios parámetros. El problema se reduce ahora a encontrar una forma adecuada para $A (Z_2)$.

Obviamente $A (Z_2)$ debe ser de tal forma que $A(0) = 0$ de tal manera que la ecuación (1) pueda ajustar los resultados para el valor de $PB = 0$, ó sea para el piretroide solo. En un principio se intentó usar la transformación propuesta por Hewlett para escarabajos : $A (Z_2) = b_2 Z_2 / (c + Z_2)$ (43), pero se vió -- que esta función de $A(Z_2)$ no ajusta los datos obtenidos con garrapatas usando la acción de un sinergista ; por lo tanto se -- buscó una transformación que diera una relación lineal para Z_2 , encontrando la siguiente :

$$\frac{A (Z_2)}{Z_2} = m + n Z_2 \text{ -----(2).}$$

Donde m y n son la ordenada al origen y la pendiente respectivamente. Despejando $A (Z_2)$ de la ecuación (2) se obtiene :

$$A (Z_2) = m Z_2 + n Z_2^2 = Z_2 (m + n Z_2)$$

Lo cual indica que la acción del sinergista tiene una función parabólica.

En el análisis gráfico el primer paso es ajustar líneas paralelas para cada concentración de BP entre probits -- empíricos y log-piretroide. Así., los valores de $\log CIO_{50}$ son estimado graficamente :

% BP	$\log CIO_{50}$
0	1.64
0.025	0.34
0.25	0.20

b_1 calculada por mínimos cuadrados fué de 0.9942. Restando de 5 que es el probit para el valor 50%) 0.9942 veces el logaritmo CIO_{50} , se obtienen valores de $a + A (Z_2)$:

% BP	$a + A (Z_2)$
0	3.3695
0.025	4.6620
0.25	4.8011

El valor de 3.3695 es una estimación de a , por lo tanto restandola de cada valor de arriba nos da estimaciones

de $A (Z_2)$:

% BP	$A (Z_2)$
0	0
0.025	1.2925
0.25	1.4316

Interpolando valores para Z_2 se obtienen datos que se ajustan a una parábola de la forma $A(Z_2) = a + mZ_2 + nZ_2^2$, donde $a = 0$.

Z_2	$A(Z_2)$
0	0
0.0125	0.6781
0.0250	1.6781
0.1375	3.9481
0.1500	3.4734
0.2000	3.1886
0.2250	2.4378
0.2500	1.4316

Ahora $\frac{A(Z_2)}{Z_2} = m + n Z_2$

Por regresión se obtiene que $m = 56.8$ y $n = -204.3$

Luego, el modelo de Hewlett aplicado a garrapatas:

$$Y = 3.3695 + 0.9942 \log Z_1 + 56.8 Z_2 - 204.3 (Z_2)^2$$

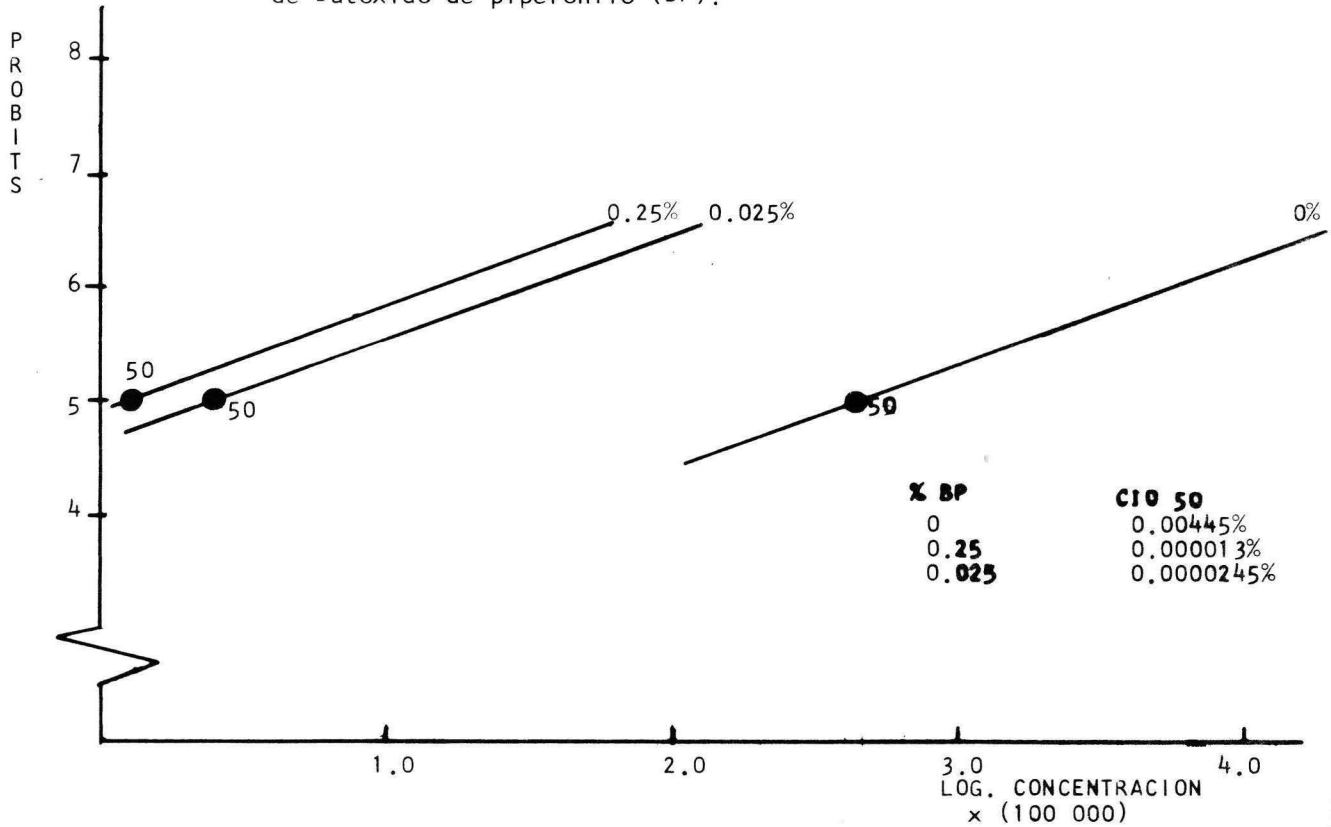
$$Y = 3.3695 + 0.9942 X_1 + X_2$$

Donde : $X_1 = \log Z_1$

$$X_2 = Z_2 (56.8 - 204.3 Z_2)$$

GRAFICA 8

Comparación de C10 50% para diferentes concentraciones de Butóxido de piperonilo (BP).



VII. D I S C U S I O N .

Con base en que los ixodicidas utilizados pertenecen a diferentes grupos químicos, además de que difieren en sus mecanismos de acción y esto aunado a que su biotransformación es llevada a cabo por sistemas enzimáticos diferentes, la discusión tiene que ser de un modo general y se hace énfasis en los puntos que nos permitan explicar la diferencia en la respuesta tóxica encontrada al combinar un sinergista derivado del metilendiofenilo (butóxido de piperonilo) con un ixodicida piretroide ó un organofosforado.

La mayoría de los xenobióticos que entran al cuerpo de los insectos son lipofílicos, propiedad que les permite penetrar a las membranas celulares y ser transportados por lipoproteínas en los fluidos corporales (45, 65, 81, 82). La cutícula de los insectos es de naturaleza lipídica, por lo cual los insecticidas modernos son lipofílicos o liposolubles por consiguiente fáciles de penetrar la cutícula del insecto (54) Ha sido generalmente considerado que la tasa de penetración está directamente relacionada con la liposolubilidad de los compuestos, ya que las capas externas de la cutícula son altamente lipofílicas ó no polares (30 , 54), lo que permite la penetración de compuestos liposolubles. Se descubrió que la permeabilidad estaba directamente relacionada con la polaridad ó sea que los compuestos menos polares (lipofílicos) pe-

netraban mucho más rápidamente que los compuestos polares (hidrofílicos) (30, 54). De ahí que haya tres factores que -- jueguen un papel importante en la penetración de insecticidas: la polaridad, la afinidad por otros componentes cuticulares - (quitina, proteínas, etc.) y la solubilidad en hemolinfa -- (54).

La naturaleza no polar de los compuestos piretroides los hace buenos agentes lipofílicos, lo cual explica su rápido efecto tóxico (Knock down), y en organofosforados su polaridad los convierte en malos agentes lipofílicos, situación que los hace ser formulados en solventes que contraresten esta polaridad (46, 87). Esto aunado a que los derivados del - metilendioxifenilo son compuestos no polares (lo que favorece su penetración a los microsomas, los cuales se consideran de naturaleza lipoidal), explica en parte los resultados obtenidos por la combinación del sinergista y el piretroide, ya que tanto el sinergista como el piretroide Cyprothrin por su no polaridad presentan una rápida penetración a través de la cutícula de los ácaros y de las membranas celulares, con lo que el efecto tóxico se obtiene en un lapso de tiempo corto (56, 64). En apoyo a lo anterior se remarca el hecho que el butóxido de piperonilo (BP) actúa como sustrato alternativo para el sistema enzimático microsomal de oxidasas de función mixta (OFM), salvoguardando al piretroide de la detoxificación con lo que se retarda la eliminación del tóxico del organismo, -

asegurando de esta forma su acción (83).

Los Organofosforados penetran al organismo por un mecanismo de difusión simple y actúan bloqueando a las acetilcolinesterasas, no permitiendo el desdoblamiento de la acetilcolina; esta especificidad con el " organo blanco " pudiera ser un factor limitante en el decremento observado por la combinación; debido a que el BP presenta un efecto bifásico, actuando primeramente como inhibidor para el sistema enzimático de OFM y posteriormente como inductor, elevándose la producción de Citocromo P-450 con lo cual se logra la detoxificación del sinergista y la desalquilación del organofosforado, que es la reacción de biotransformación que cataliza este sistema multi enzimático (45).

La combinación entre un organofosforado (Chlorfenvinphos) y un sinergista derivado del metilendioxfenilo (BP), arroja resultados que nos hace suponer preliminarmente que el BP no actúa como sinergista, sino que participa ejerciendo una acción antagónica cuya complejidad está fuera de los alcances de este trabajo.

Un factor importante en relación con el efecto biológico es el metabolismo ó biotransformación del compuesto químico, el cual se lleva a cabo en el retículo endoplásmico liso de la célula (67). Los sistemas de detoxificación están localizados en el fluido citoplásmico (enzimas solubles) ó -

pueden estar unidas al retículo endoplásmico (enzimas micro-- somales). Las enzimas solubles incluyen principalmente es- - terasas; mientras que las enzimas microsomales incluyen algunas estererasas y principalmente a las Oxidasas de función mixta (OFM) (49, 50, 54, 61). En todos los casos conocidos de sinergismo en insecticidas, se ha observado que este resulta mediante la - interacción del sinergista con las enzimas de detoxificación, - en la cual se ven afectadas varias reacciones de biotransformación (61, 73, 81).

La biotransformación de Organofosforados es llevada- a cabo por dos grandes grupos de sistemas enzimáticos: las en- zimas no oxidativas tales como estererasas (fosfatasas, carbo--- xiestererasas, etc.) y el sistema microsomal oxidativo (OFM) (30, 61, 65, 73). Si cualquier insecticida organofosforado - es sinergizado ó no por compuestos derivados del metilendioxi- fenilo, puede depender de un balance metabólico entre las vías críticas responsables para la activación y degradación de los compuestos catalizados por los sistemas de OFM del organismo- involucrado y el grado en el cual cada una de estas vías es - inhibida por los compuestos derivados del metilendioxifenilo- (30).

El BP ejerce su efecto actuando como substrato alter- nativo salvoguardando al piretroide de la detoxificación por el sistema de OFM; esta inhibición involucra la formación de un complejo metabólico-inhibitorio con el grupo Hem del Cito

cromo P-450, el cual es la fracción activante del oxígeno molecular y el sitio de interacción con el sustrato y es importante el papel que juega esta hemoproteína en la actividad sinérgica (45, 65, 83).

Las garrapatas son vitalmente dependientes del sistema de OFM el cual lleva a cabo casi en su totalidad la detoxificación de piretroides, mientras que en Organofosforados - este sistema no juega un papel tan importante; ya que en estos últimos el mecanismo principal de detoxificación es efectuado por hidrólisis esterásica (30, 70).

Un factor que interviene en la especificidad sinérgica es la facilidad de inducción, esto relaciona tanto a sinérgicas como a insecticidas. Hay indicios de que en el metabolismo de xenobióticos puede estar involucrado intrínsecamente su capacidad para inducir a las OFM y así el BP actuando inicialmente como un inductor, bloquea la inducción enzimática como un efecto retardado. Esta última característica - expresa que el sinérgico bloquea la inducción enzimática, no permitiendo que se genere más Citocromo P-450, alterando este mecanismo de retroalimentación y por lo tanto decreciendo la tasa de detoxificación oxidativa por este sistema enzimático, con lo cual el efecto del piretroide será mayor que el del organofosforado ya que el piretroide se detoxifica en su mayor parte por este sistema enzimático microsomal (57).

La discusión de los resultados se basa en los parámetros de control biológico : Inhibición de Oviposición e Inhibición de Eclosión, ya que se trabajó con parásitos adultos. Se comparan los resultados de los productos por sí solos, así como la combinación con el sinergista. También se hace una breve discusión acerca del modelo matemático.

Oviposición.

Para la comparación del efecto sinergista se toman como puntos de referencia los valores de C10, 50, 90, 99% del ixodicida y aquellos del ixodicida más el sinergista, así como el valor de la pendiente . En la Gráfica No. 3 se observa que los valores 90 y 99% del organofosforado más el sinergista presentan un menor efecto tóxico, no así para el valor 50% en el cual la combinación mostró un mayor efecto. El valor de la pendiente en la combinación nos indica que la población presentó una respuesta más homogénea (2.758); caso contrario al del ixodicida solo donde el valor de la pendiente (0.884) nos indica que la población respondió heterogéneamente al tratamiento . Esta misma gráfica ilustra que la línea de regresión de la combinación al situarse a la derecha del plano, que la población es más tolerante al tratamiento en comparación a la respuesta obtenida por el organofosforado únicamente.

Una posible explicación en el decremento obtenido por la combinación del Chlorfenvinphos con el BP, pudiera deberse

a que los organofosforados desalquilados son más susceptibles a la degradación enzimática, ó que el sistema de OFM pudiera atacar algunos otros sitios además de los alquil, y que los derivados desalquilados al ser más lipofílicos serían más susceptibles al ataque enzimático (30).

Con respecto a la respuesta encontrada con el piretroide Cyprothrin se observa en la gráfica No.4 que los valores de inhibición de oviposición 50,90,99 % y el valor de la pendiente (1.008) al ser comparados con los obtenidos por la combinación del piretroide más el sinergista, se presentó un decremento en el efecto tóxico de los parámetros arriba mencionados. El valor de la pendiente de la combinación (1.329) indica una homogeneidad en la respuesta, así como un aumento en el efecto tóxico ó sea que la población responde con mayor susceptibilidad a la combinación que al tratamiento por el piretroide solo. La línea de regresión del piretroide es --- más horizontal, indicando una mayor amplitud de concentraciones a las cuales hay individuos que responden al tratamiento. Este último caso nos llevó a implementar una prueba de paralelismo entre las rectas de regresión de la combinación y la del piretroide, la cual arrojó que el piretroide más el sinergista aumentó su efecto en casi 7 veces, situación que no --- pudo ser aplicada a la combinación del organofosforado ya que en las rectas obtenidas no se presentó paralelismo (Gráfica No. 3).

Eclosión .

En la determinación de la respuesta de eclosión, la combinación de organofosforado más el BP presentó un decremento en la toxicidad (Gráfica No.7), a la vez el valor de la pendiente fue menor que la obtenida al tratar las garrapatas con el producto unicamente. Como anteriormente se mencionó, el valor de la pendiente nos indica el comportamiento de la población al tratamiento; así tenemos que se presentó una respuesta heterogénea en la combinación (1.615), no así en la del Chlorfenvinphos (2.788)(Gráfica No.7). Además, la población se mostró más susceptible al tratamiento con el organofosforado que a la combinación de este con el sinergista, ó sea que la población presentó una menor respuesta a la combinación. Con respecto a la eclosión al utilizar el BP en combinación con el piretroide Cyprothrin, fórmula.

La significancia de este parámetro biológico es enorme, ya que un compuesto químico que haya fallado en el parámetro anterior (Inhibición de Oviposición), pudiera presentar un efecto significativo sobre la eclosión, no permitiendo que las larvas emerjan de los huevecillos con lo cual se asegura el control del parásito.

Hay reportes en trabajos realizados en Australia, -- donde el BP es letal a todos los estadios de la garrapata -- cuando es usado a relativamente altas concentraciones (70)

lo cual se confirmó con los resultados, ya que al ir incrementándose la concentración de BP, el efecto sobre las garrapatas se reflejaba en un decremento en la oviposición e incluso en la muerte de estas. El efecto acaricida mostrado por el BP - por sí solo pudo haber contribuido al aumento de la toxicidad de la combinación, y no sería cierto por lo tanto que el BP -- actue con los ixodícid~~as~~ predominantemente como un sinergista.

El modelo matemático desarrollado, predice el comportamiento del sinergista en combinación con el Cyprothrin; aunque el número de concentraciones de sinergista nos priva de un buen manejo estadístico de los resultados, los cuales deben ser tomados con la reserva del caso hasta que estas combinaciones sean evaluadas en el campo.

Se debe enfatizar en la importancia que representa el manejo de mezclas de compuestos, ya que las mezclas de diferentes formulaciones son frecuentemente inestables; además si cada uno de los componentes usados individualmente ha mostrado estar desprovisto de toxicidad para el huésped ó problemas residuales, la combinación pudiera producir una interacción bioquímica que necesitaría la reevaluación de los riesgos (57, 59). Es necesario reconocer el real peligro que en algunos casos adquiere la adición de un sinergista cuyo -- objetivo es superar un sistema de detoxificación en una plaga y que puede conducir también a una reducción en el margen de seguridad entre el tratamiento adecuado de la plaga y aceptable

baja toxicidad para el huésped (59). Así también los problemas asociados con inestabilidad y formulación pudieran limitar el uso de estas combinaciones en el campo, las cuales mostraron ser primisorias en el laboratorio.

VIII. CONCLUSIONES.

- El sinergista butóxido de piperonilo actúa como tal en combinación con el ixodicida piretroide Cyprothrin, y tiene un efecto antagónico con el Organofosforado Chlorfenvinphos.
- Las dos concentraciones probadas de butóxido de piperonilo mostraron sinergismo, aunque 0.25% mostró un mayor efecto. Se recomienda usar un mayor número de concentraciones de butóxido de piperonilo para un mejor análisis estadístico.
- El combinar un sinergista derivado del metilendio-xifenilo y un piretroide nos ofrece alternativas en el combate para el control de garrapatas Boophilus microplus; por lo que este tipo de combinaciones podría ser utilizadas en situaciones cuarentenarias, con lo cual la permanencia del ganado en dichos lugares se reducirá.
- La combinación de Cyprothrin - butóxido de piperonilo podría ser utilizada contra garrapatas resistentes, siempre y cuando estas combinaciones sean evaluadas en campo para determinar su verdadera efectividad y aplicación.
- El butóxido de piperonilo a concentraciones mayores de 0.2% mostró ser tóxico para las garrapatas por sí solo, y es probable que no solamente actúe como sinergista, sino como un tóxico participando en algún tipo de acción conjunta.

- El modelo matemático desarrollado en el presente -- trabajo, explica la posible relación que existe entre el butó xido de piperonilo y el piretroide Cyprothrin; por lo que pu-- diera ser utilizado en futuros trabajos para el desarrollo de combinaciones entre este sinergista y otros ixodicidas.

IX. BIBLIOGRAFIA.

- 1.- ABURTO, A.S. (1980). Evaluación del Efecto de Co toxicidad entre un Organofosforado y un Piretroide contra Boophilus microplus. Tesis Profesional. -- Fac. Est. Sup. Cuautitlan. U.N.A.M., México.
- 2.- AGUIRRE, J.A. (1980). Alteraciones en la Fisiolo-- gía de Hembras Repletas de Boophilus microplus tra-- tadas con tres Ixodicidas Organofosforado. Tesis Pro fesional. Fac. Med. Vet. y Zoot. U.N.A.M. México.
- 3.- AGUIRRE, J.A. (1981) . Comunicación Personal. Cen tro Nacional de Parasitología Animal. Fideicomiso - Campaña Nacional Contra la Garrapata. México, D.F.
- 4.- BALASHOV, Y.S. (1972). Bloodsucking Ticks (Ixodoi dea) Vectors of Diseases of man and Animals. Misc. Publ. Entomol. Soc. Amer. pp. 165-205, 254-285.
- 5.- BARNETT, S.F. (1961) . La Lucha contra la Garrapa ta del Ganado Ed. Organización de la Naciones Unidas para la Alimentación (F.A.O.) Roma, Italia.
- 6.- BENNETT, G.F. (1974 b) . Oviposition of Boophilus microplus (canestrini) (Acarina : Ixodidae) -- (11) Influence of Temperature, Humidity and Light.- Acarología 16 (11):53

- 7.- BREESE, M.H. (1977). The Potencial for Pyrethroid as Agricultural, Veterinary and Industrial Insecticides. Pest. Sci 8:264-69
- 8.- BREESE, M.H. AND SEARLE, J.G. (1977). Why the Newer Synthetic Pirethroids Show promise? Span. ----- 20:18-30.
- 9.- BROWN, A.W.A. AND PAL, R. (1972) Resistencia de -- los Artropodos a los Insecticidas. Organización Mundial de la Salud. 2a. Ed. Ginebra, Suiza. pp. 25-47.
- 10.- CALDERON, L.C. (1979). Análisis Probit. Centro --- Nacional de Parasitología Animal. (F.C.NC.G.) S.A.R. H. México, D.F.
- 11.- CAMINO, L.M. Y BUTLER, J.F. (1976). Pruebas del -- Piretro Sintético ICI-11420, contra la Garrapata --- Rhipicephalus sanguineus (Latreille) en Gainesville, Florida. Congreso Nacional de Entomología. Monterrey N.L. México.
- 12.- CAMINO, L.M. (1980). The Development of an Integra_uted Management Sistem for the Cattle Tick Boophilus-microplus (Canestrini 1887) In Morelos State, Méxi_uco. Thesis of Doctor in Phylosophy. University of -- Florida, U.S.A.

- 13.- CAMOUGIS, G. (1973). Mode of Action of Pyrethrum on Arthropod Nerves. in Pyrethrum, the Natural Insecticide. (Ed. Casida, J.E.). Academic Press. London/ - New York. pp. 219.
- 14.- CASIDA, J.E. et al (1966). Methylene- C^{14} - Dioxy-phenyl Compounds: Metabolism in Relation to their - Synergistic Action. Science. 153:1130-34.
- 15.- CASIDA, J.E. (1970). Mixed-Function Oxidase Involvement in the Biochemistry of Insecticide Synergist. J. Agr. Food. Chem. 18:753-772.
- 16.- CENTRO NACIONAL DE PARASITOLOGIA ANIMAL. (F.C.N.C.G). Evaluación del Comportamiento del Producto Cythrin (Cyanamid de México) en Garrapatas Boophilus spp. En Condiciones de Laboratorio y Campo. Reporte Técnico. Sin Publicar. 1980.
- 17.- CRAMER, H.C. (1978). Evaluación de la Antigenicidad - de Glándulas Salivales e Intestino de Amblyomma ---- cajennense en Conejos Oryctolagus cuniculus. Tesis de Licenciatura. Fac. de Ciencias. U.N.A.M. México.
- 18.- CREMLY, R. (1978). Pesticides, Preparation and Mode of Action. John Wiley & Sons. London/New York. pp. 42-49.

- 19.- CORTEZ, N.C. (1982). Evaluación de tres ixodicidas organofosforados utilizando el análisis probit. Tesis Profesional. Escuela de Ciencias Biológicas. U.A.E.M. Cuernavaca, Mor., México.
- 20.- DAVIS, J.W., HARDING, J.A. AND WOLFENBARGER, D.A. (1975). Activity of a Synthetic Pyrethroid against Cotton Insects. J. Econ. Entom. 68:373-4.
- 21.- DE LA VEGA, R. (1975). Estudio de la Biología de Boophilus microplus. Informe Técnico. Vicerrectoría de Investigaciones Agropecuarias. La Habana, Cuba.
- 22.- DE LA VEGA, R. (1976). Contribución al estudio de la Biología de Boophilus microplus (Canestrini 1887) en Cuba. Serie Biológica 64, La Habana, Cuba.
- 23.- DRUMMOND, R.O., GLADNEY, W.J. AND GRAHAM, O.H. (1974). Recent Advances in the use of Ixodicides to Control Ticks Afecting Livestock. Bull. Off. Int. Epiz. 81-(1-2):47-63.
- 24.- DRUMMOND, R.O. (1977). Resistance in Ticks and Insects of Veterinary Importance. Pesticide Management and Insecticide Resistance. Academic Press. New York and London. 303-309.
- 25.- DRUMMOND, R.O. (1978). Current Worldwide Research on Control of Ticks Involved in Animal Diseases. Misc. Publs. Ent. Soc. Am. 6(7):367-72.

- 26.- DURACHE, R. (1977). Organophosphorus Pesticides. Criteria (Dose/Effect Relationship) for Organophosphorus Pesticides. Pergamon Press. England. pp. 8-19.
- 27.- ELLIOT, M. AND JANES, N.F. (1973). Chemistry of Natural Pyrethrins in Pyrethrum, The Natural Insecticide. (Ed. Casida, J.E.). Academic Press. London and New York.
- 28.- ELLIOT, M. (1976). In Metcalf, R.L. and McKelvey, J. (Ed.). The Future for Insecticides. Needs And Prospects. Wiley. New York.
- 29.- ELLIOT, M., JANES, N.F. AND POTTER, C. (1978). The Future of Pyrethroids in Insect Control. Ann. Rev. - Entomol. 23:443-69.
- 30.- ETO, M. (1977). Organophosphorus Pesticides: Organic and Biological Chemistry. Crs. Press. E.U. pp. 13- 27, 157-231.
- 31.- FINNEY, D.J. (1980). Probit Analysis. Cambridge Univ. Press. Third Edition. London. pp. 1-7, 230-269.

- 32.- FINNEY, D.J. (1980). Statistics for Biologist. --- Edit. Science Paper Backs. Great Britain. pp. 1-66.
- 33.- FIDEICOMISO CAMPAÑA NACIONAL CONTRA LA GARRAPATA. - Unidad de Programación y Evaluación Económica. S.A. R.H. México, D.F. (1979).
- 34.- GARCIA, U.J.R. (1977). Potenciación de Mezclas - de Insecticidas Inhibidores de la Acetil-Colinesterasa por Aplicación Topica a Larvas de Spodoptera exigua Hubner, de 20 a 50 miligramos . Tesis de -- Maestría en Ciencias C.P. Entomología. Chapingo, - México.
- 35.- GOMEZ, M.L.A. (1981). Efecto de un Organofosforado (Fampur) Administrado por Medio de Bolos de Eliminación Lenta a Bovinos Criollos Infestados Artificialmente con Garrapatas Boophilus microplus. - Tesis Profesional. Fac. Med. Vet. Zoot. U.N.A.M., - México.
- 36.- GONZALEZ, J.C. (1975). O Controle Do Garrapato -- Dos Bovinos. Livraria Sulina Editora. Porto Alegre, Brasil.
- 37.- GONZALEZ, O.A. Y LOPEZ , LA. (1980). Efecto de la Garrapata Sobre la Producción Bovina. Ganadero. V(1) 35-40.

- 38.- GRILLO TORRADO, J.M., GUTIERREZ, R.O. Y PEREZ ARRIETA, A. (1971). Comparación de la Actividad In Vitro e in Vivo de los Garrapatacidas Organofosforados. Rev. Invest. Agrop. (Bs-As).
- 39.- HARLEY, K.L.S. AND WILKINSON, P.R. (1971). A Modification of Pasture Spelling to Reduce a Acaricide-Treatment for Cattle Tick Control. Aust. Vet. Jour. 47:108:111.
- 40.- HARRISON, I.R., PLAMER, B.H. And WILMSHRST, E.C. --- (1973). Chemical Control of Cattle Ticks. Resistance Problems. Pestic. Sci. 4:531-42.
- 41.- HERNANDEZ, P.J. (1979). Efecto de 5 Compuestos Piretroides Sobre Dos Líneas de Musca doméstica L. -- Susceptibles y Resistentes al DDT. Tesis Profesional. Int. Tec. Est. Sup. de Monterrey , N. L. México.
- 42.- HEWLETT, P.S. (1960). Joint Action in Insecticides. Advan. Pest. Contr. Res. 3 :27-74.
- 43.- HEWLETT, P.S. (1968). Synergism and Potentiation in Insecticides. J.Chem. And Industry. 5:701-706.
- 44.- HEWLETT, P.S. (1968). The Toxicity to Tribolium castaneum (herbst) (Coleptera, Tenebrionidae) of --- Mixtures of Pyrethrins and Pireronyl Butoxide: Fitting a Mathematical Model. J. Stor Prod. Res. 5:1-9.

- 45.- HODGSON, E. AND DAUTERMAN, W.C. (1980). Metabolism of Toxicants. In Introducción to Biochemical Toxicology. Ed. By Hodgson, E. And Guthrie, F.E.. Elsevier, U.S.A. pp. 67-90.
- 46.- HUTSON, D.H. (1979). The Metabolic Fate of Synthetic Pyrethroid ". in Progress in Drug Metabolism. - (Ed. Bridges, J.G. And Chasseaud, L.F.) John Wiley & Sons. London . Chapter 4.
- 47.- INFANTE, G.S. Y CALDERON, A.L.C. (1980). Manual de Análisis Probit. Colegio de Postgraduados. S.A.R.H. Centro de Estadística y Cálculo . Chapingo, México.
- 48.- KEARNAN, J.F. (1974). Cattle Tick Control. Queensland Agricultural Journal. 5: 177-179.
- 49.- KHAN, MA. STANTON, R.H. AND REDDY, G. (1974). Detoxication of Foreign Chemicals by Invertebrates . (In Survival in Toxic Environments). Academic Press. E.U. pp. 177-201.
- 50.- KNOWLES, C.O. (1974). Detoxication of Acaricides by Animals. (In Survival In Toxic Environments). Academic Press. E.U. pp. 155-175.
- 51.- LOPEZ, L.A., RUIZ, B.R., DE LA TORRE, D.A., SOLIS, S.A., ROJAS, D. B. y DIAZ, L.E. (1979). Manual de Garrapatas para Médicos Veterinarios del Fideicomiso

- Campaña Nacional Contra la Garrapata. Depto. de Divulgación. F.C.N.C.G. México, D.F. Capítulos 1,2 y 3.
- 52.- McCOSTER, P.J. (1979). Global Aspects of the Management and Control of Ticks of Veterinary Importance. Recent Advances in Acarology. Ed. Rodríguez, J.G. pp. 45-53.
- 53.- MARIN, R.A. (1979). Determinación del Comportamiento de Boophilus microplus hacia 5 ixodicidas Organofosforados en Pruebas de Campo y Laboratorio en Linares, - N.L. Tesis Profesional. Fac. Med. Vet. y Zoot. U.N.A.M. México.
- 54.- MATSUMURA, F. (1975). Toxicology of insecticides. Ed. Plenum Press. Co. New York, U.S.A. Chapters 4,5,6.
- 55.- MENDEZ, S.M.A. (1980). Evaluación de Cuatro Productos Simpaticomiméticos sobre Garrapatas Boophilus microplus Tesis Profesional. Fac. Med. Vet. y Zoot. UNAM. México.
- 56.- METCALF, R.L., FUKUTO, T.R., WILKINSON, C., FAHMY, M.H. ABDEL-AZIZ, S. AND METCALF, E.R. (1966). Mode of Action of Carbamate Synergistics. J. Agr. Food. Chem. 14:444-462.
- 57.- METCALF, R.L. (1967). Mode of Action of Insecticide Synergist. Ann. Rev. Entomol. 12:229-256.

- 58.- NOLAN, J. AND BIRD, P.E. (1977). Co-Toxicity of -- Synthetic Pyrethroids and Organophosphorus Compounds againsts the Cattle Tick (Boophilus microplus) J. - Aust. Ent. Soc. 16 (3):252.
- 59.- NOLAN, J. (1979). New Acaricides to Control Resistant ticks. Recent Advances in Acarology. Rodriguez, J.G. Edit. 11:55-64.
- 60.- NOLAN, J. AND ROULSTON, W.J. (1979). Acaricide Resistance as a factor in the management of Acari of Medical and Veterinary Importance. Recent Advances In -- Acarology. Rodriguez J.G. Edit. 11.
- 61.- PLAPP, F.W. Jr. (1974). Genetics of Detoxication In Insects. (In Survival In Toxic Environments). Academic Press. E.U. pp. 315-333.
- 62.- PERRY, A.S. (1974). Insecticide Resistance in Insects and its Ecological and Economic Thrust. (In Survival in Toxic Environments.). Academic Press. E.U. pp.399-445.
- 63.- PERRY, A.S. AND HOSKINS, W.M. (1951). Synergistic - Action With DDT Toward Resistant House Flies. J. Econ. Entomol. 44:839-850.

- 64.- PHILEO, W.W., SCHONBROD, R.D. AND TERRIERE, L.C. ----
(1965). Methylendioxyphenyl Compounds as Inhibitors
of The Hydroxylation of Naphthalene in House Flies.
J. Agr. Food. Chem 13:113-115.
- 65.- QURAIISHI, MS. (1977). Biochemical Insect Control.
Its. Impact on Economy, Environment & Natural Selec-
tion. Wiley / Interscience Publications. U.S.A. Chap-
ters: 1,3,15 and 16.
- 66.- RADALEFF, R.D. (1967). Toxicologia Veterinaria. Ed
Academia León, España . pp. 220-24.
- 67.- RADALOWICZ, A. (1979). The Effect of Synthetic Py-
rethroids on some African Ixodidae. Recent Advances-
in Acarology. 11:85-93.
- 68.- ROJAS, J.B. (1978). Estudio de la Biología de Boo-
philus microplus fase no Parasitica, provenientes --
del Estado de Morelos, en condiciones naturales y de
Laboratorio. Tesis Profesional. Fac. Med. Vet. y Zoot.
U.N.A.M. México.
- 69.- SCHIMDT, C.D. AND MATER, J.J. (1976). Evaluation of
a Synthetic Pyrethroid for Control of Stable Flies --
and Horn Flies on Cattle. J. Econ. Entomol. 69:484-86.

- 70.- SCHUNTNER, C.A., ROULSTON, W.J. AND WHARTON, R.H. -- (1974). Toxicity of Piperonyl Butoxide to Boophilus microplus. Nature. 249: 386.
- 71.- SPRINGELL, PH. (1974). The Cattle Tick in Relation to Animal Production in Australia. World Animal Review. 10:1923.
- 72.- STONE, B.F. AND HAYDOCK, K.P. (1962). A Method for Measuring the Acaricide Susceptibility of the Cattle tick Boophilus microplus (Can.) Bull. Ent. Res. 53 (3):563-78.
- 73.- SUN, Y.P. AND JOHNSON, R.E. (1960). Synergistic -- and Antagonistic Actions of Insecticides-Synergist Combinations and Their Mode of Action. J. Agr. Food. Chem. 8 (4):261-66.
- 74.- TREVIÑO, R.J. (1976). Evaluación in Vitro de Siete Ixodíidas Organofosforados Comerciales Contra Boophilus microplus. Tesis Profesional. Fac. Med. Vet. y Zoot. U.N.A.M. México.
- 75.- TREVIÑO, R.J. Y GONZALEZ, O.A. (1976). Evaluación In-Vitro de Piretros Comerciales Contra Boophilus microplus. Centro Nacional de Parasitología Animal. -- (F.C.N.C.G.) México, Sin Publicar.

- 76.- TREVIÑO, R.J., AGUIRRE, E.J. y NERI, O.S. (1981).
Evaluación de Productos Piretroides como Alternativas
en el Combate de las Garrapatas. II Convención y Expo-
sición Nacional de Salud Animal y X Reunión Anual de
Sanidad Animal. México, D.F.
- 77.- VAN DEN BERCKEN, J. (1980).(In Van Miert, A.S.J.,
Frens, J., and Van Der Kreek, F.W. Edit.). Trends -
in Veterinary Pharmacology and Toxicology. Elsevier-
Scientific Publishing Co. New York pp. 242-48.
- 78.- WACHS, H. (1947). Synergistic Insecticides. Science.
105:530-531.
- 79.- WILKINSON, P.R. (1957). The Spelling of Pasture ---
on Tick Control. Aust. J. Agric. Res. 8:414-423.
- 80.- WILKINSON, C.I. (1973). Correlation of Biological -
Activity (In Pesticides Formulations. Van Valkenburg,
W. Ed. Decker, Inc. New York.
- 81.- WILKINSON, C.F. (1976). Insecticide Synergism. (In
The Future for Insecticides : Needs and Prospects. --
Wiley & Sons. E.U. 195-222.
- 82.- WILKINSON, P.R. (1979). Ecological Aspects of Pest
Management of Ixodid Ticks. Recent Advances In Acaro-
logy. Rodriguez, J.G. Edit. 11:25-33.

- 83.- YAMAMOTO, I. (1973). Mode of Action of Sinergist in Enhancing the Insecticidal Activity of Pyrethrum and Pyrethroids. (in Pyrethrum The Natural Insecticide. Ed. Casida, J.E.). Academic Press. 10:195-210.