

# ESTUDIO DE LA RELACIÓN ENTRE EL SEXO DE LA HAEMATOBIA IRRITANS (DIPTERA: MUSCIDAE) Y LA SUSCEPTIBILIDAD/RESISTENCIA A LA CIPERMETRINA

CASTELLI, M. E.<sup>1</sup>; MANGOLD, A. J.<sup>1</sup>; BERTELLO, C.<sup>2</sup>;  
FALETTI, C. M.<sup>3</sup> & GUGLIELMONE, A. A.<sup>1</sup>

## RESUMEN

La *Haematobia irritans*, mosca de los cuernos es un díptero hematófago, parásito obligado de los bovinos, que provoca importantes pérdidas económicas en la producción de leche y carne. Está ampliamente distribuida en nuestro país y para combatirla se han utilizado en forma masiva piretroides sintéticos, lo cual produjo poblaciones de moscas resistentes a este principio activo de bajo costo y alta toxicidad para el parásito. Uno de los mecanismos de la resistencia a los piretroides es la mutación en el gen del canal de sodio reemplazando una leucina por fenilalanina, otorgándole resistencia del tipo kdr (knockdown resistance). Esta mutación puede detectarse, en forma individual, mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). El objetivo del presente ensayo fue evaluar la relación de la proporción entre individuos adultos machos y hembras con ausencia o presencia de la mutación kdr. Para estimar la cantidad de especímenes homocigotos y heterocigotos según el sexo, se capturaron moscas de bovinos de la EEA INTA Rafaela desde febrero a diciembre de 2003. Para determinar la dosis letal 50 (DL50) se utilizaron papeles de filtro impregnados con diferentes concentraciones de cipermetrina. Según la DL 50 se estratificó en: DL50 menor 4 µg/cm<sup>2</sup>; entre 4.1 y 6 µg/cm<sup>2</sup> y mayor de 6 µg/cm<sup>2</sup>. De cada una de las muestras obtenidas de esta población de campo, se tomaron al azar moscas y se determinó el sexo de las mismas y mediante la técnica de PCR se constató la presencia o ausencia de la mutación genética. Para cada uno de los estratos se comparó la proporción de machos homocigotos susceptibles (ss) vs hembras homocigotas susceptibles (ss), machos heterocigotas (sr) vs hembras heterocigotas (sr) y machos resistentes homocigotas (rr) vs hembras resistentes homocigotas (rr). La comparación de proporciones según sexo y DL 50 se analizó mediante Chi - cuadrado. En las condiciones de este ensayo no hubo diferencias significativas, en los diferentes rangos de DL50, en la proporción de hembras y machos ya sea homocigotas o heterocigotas.

*Palabras claves:* *Haematobia irritans*, cipermetrina, DL 50, kdr, sexo.

---

1.- INTA EEA Rafaela. C. C. 22. (2300) Rafaela, provincia de Santa Fe. Email: mcastelli@rafaela.inta.gov.ar

2.- Actividad privada. 26 de Enero 498. (2300) Rafaela, provincia de Santa Fe.

3.- Facultad de Ciencias Veterinarias (UNR). Avda. Ovidio Lagos y Ruta 33. (2170) Casilda, provincia de Santa Fe. Proyecto INTA PL 7-26-03

Manuscrito recibido el 9 de febrero de 2010 y aceptado para su publicación el 30 de marzo de 2010.

## SUMMARY

### Study of relationship between sex of *haematobia irritans* and susceptibility / resistance to cypermethrin.

*Haematobia irritans*, horn fly is a blood - feeding parasite of beef and dairy cattle, that produces important economic losses. This pest is widespread in Argentina and synthetic pyrethroid insecticides have been used for its control in a continuous and indiscriminate manner, since 1993. This resulted in the development of pyrethroid resistant *Haematobia irritans* populations. Mutation in sodium channel gene sequence leads to the amino acid replacement of a leucine by phenylalanine. The target site for the resistance mechanism is referred to as knockdown resistance (kdr). The polymerase chain reaction assay (PCR) was used on individual horn flies to detect the mutation. This assay was done to evaluate the relationship between presence or absence of kdr and sex. Since February to December 2003 field population of *H. irritans* collected at INTA EEA Rafaela were examined to estimate the proportion of homozygote and heterozygote flies according as the sex by PCR assay and filter paper bioassay with cypermethrin to obtain lethal concentration 50 (LC50). According to LC50 form into layers: less than 4µg/cm<sup>2</sup>, between 4.1 y 6 µg/ cm<sup>2</sup>, greater than 6 µg/cm<sup>2</sup>. PCR assay was used to detect the occurrence of kdr on individual horn flies which were previously sorted by sex. The rate of homozygotes susceptible male vs homozygotes susceptible female; heterozygotes resistant male vs heterozygotes resistant female; homozygotes resistant male vs homozygotes resistant female were compared for each stratus. Under the conditions of the present study, no significant difference was found between the ratio of male and female whether homozygote or heterozygote.

*Key words:* *Haematobia irritans*, cypermethrin, LC 50, kdr, sex.

## INTRODUCCIÓN

La *Haematobia irritans* es una mosca hematófaga de los bovinos mantenidos bajo condiciones pastoriles y de amplia distribución en nuestro país. Los individuos adultos permanecen constantemente sobre sus hospedadores, salvo en el caso de las hembras, que abandonan a los mismo para colocar sus huevos en la materia fecal donde se desarrolla el ciclo pre-parasítico (larva 1, larva 2, larva 3 y pupa) (Bruce, 1964).

A fines de 1991 se detectó la presencia de la *H. irritans* en la Argentina (Luzuriaga *et al.*, 1991), la que se propagó rápidamente en las áreas ganaderas del país (Anziani *et al.*, 1993) afectando a todos los sistemas ganaderos (carne, leche). La eficacia de los insecticidas en base piretroides moderaron el pro-

blema hasta que el uso indiscriminado provocó que se generaran poblaciones resistentes (Torres *et al.*, 1996; Guglielmone *et al.*, 1998; Guglielmone *et al.*, 2001a) y como consecuencia este principio activo perdió gran parte de su utilidad. Esto se evidenció claramente en el área de la cuenca lechera central de la Argentina donde en la época que la *H. irritans* era susceptible, la concentración letal 50 (CL50) a la cipermetrina; determinada con la técnica de Sheppard y Hinkle (1987) era 0,04 µg (Aguirre *et al.*, 1995) alcanzando valores extremos de 237 µg sólo cuatro años después (Guglielmone *et al.*, 1999). Bajo condiciones de campo, este notable incremento de la CL50 se evidenció en la caída del período libre de moscas postratamiento de 26 días a cero. Este crecimiento de la CL50 no sólo provoca la pérdi-

da de un eficiente principio activo de bajo costo y escasa toxicidad sino que resulta en un incremento en los gastos de control y un mayor riesgo de toxicidad para los mamíferos por el reemplazo con otros insecticidas. Por otro lado, cuando en una población se genera resistencia a una droga las chances que esta resistencia revierta son escasas; por ello se considera que la susceptibilidad de un parásito a un principio activo es un recurso natural no renovable (Hueth & Regev, 1974).

En el caso de insectos de ciclos de vida cortos y alto grado de reproducción el desarrollo de resistencia es más rápido. Con el uso continuo de un insecticida ese rasgo se mantiene en el tiempo y así el número de individuos resistentes aumenta. La evolución de la capacidad de resistencia depende de la frecuencia en que se presenta la mutación genética que le confiere ese rasgo. Los genes de resistencia pueden variar desde dominantes, semi-dominantes a recesivos (IRAC 2006).

Frente a la presión de los insecticidas, la *H. irritans* desarrolla un conjunto de mecanismos de sobrevivencia: a) insensibilización del sitio objetivo (canal de sodio) b) aumento de los mecanismos de detoxificación c) modificación del comportamiento.

Los piretroides actúan sobre las neuronas del sistema nervioso central y periférico, impidiendo el cierre del canal de sodio lo que deteriora la propagación del impulso nervioso e incrementa la liberación de neurotransmisores que provocan hiperexcitabilidad, convulsiones e incoordinación seguido de muerte de la *H. irritans* (Zlotkin, 1999; Neus Lopez Soler, 2008). Frente a la presión del insecticida (incremento de dosis y frecuencia) se seleccionan los individuos resistentes que poseen insensibilidad del canal de sodio a la acción de los piretroides. Esto se evidencia por una mutación en su genoma

donde una leucina es reemplazada por una fenilalanina, lo cual le confiere resistencia del tipo kdr (knockdown resistance) (Guerrero 1998). Mientras que, la sustitución de una metionina por una treonina le otorga la resistencia de tipo super - kdr (Guerrero *et al.*, 1997). Es de destacar que estos mecanismos de resistencia no están controlados por genes dominantes.

Mediante la técnica basada en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se puede detectar si un espécimen de *H. irritans* posee en su genoma las mutaciones específicas que le otorgan resistencia a los piretroides detectando individuos homocigotas susceptibles (ss) o resistentes (rr) y heterocigotas (sr). Esta técnica ya ha sido utilizada en el monitoreo de poblaciones a campo de *H. irritans* resistentes a los piretroides en Texas (EE.UU) (Jamroz *et al.*, 1998). A diferencia de las técnicas convencionales (Sheppard & Hinkle 1987) que utilizan papeles de filtro impregnados con insecticidas que determina la concentración letal 50 (CL50), la PCR brinda información cuantitativa directa de la variación del genotipo relacionado al kdr en la población evaluada.

En cuanto a la detoxificación es un mecanismo que involucra la actividad de las enzimas oxidasa multifunción que asociado a la inhibición del canal de sodio incrementa las posibilidades de generar individuos resistentes a los piretroides.

Finalmente otro mecanismo de resistencia a los piretroides consiste en evitar el contacto mudándose del hospedador hasta que la concentración del mismo disminuya o ubicándose en la parte ventral del animal donde las concentraciones son más bajas.

En estudios realizados para evaluar la resistencia de la *H. irritans* a la cipermetrina, se determinó la CL50 y presencia de kdr de diferentes poblaciones (Li *et al.*, 2003) en los que halló variabilidad en la presencia de

individuos ss, sr y rr; con una mayor proporción de hembras rr que machos.

En nuestro país se han realizado monitoreos de CL 50 en distintas regiones donde se desarrollan la *H. irritans* (Guglielmone *et al.*, 2001 b; Fader, 2001); pero no se ha evaluado la presencia de individuos homocigotas y heterocigotas mediante PCR.

El presente ensayo se llevó a cabo con el propósito de evaluar la relación de la proporción entre individuos con ausencia o presencia del kdr y el sexo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se seleccionaron dos establecimientos lecheros de la EEA INTA Rafaela, distantes entre sí 15 km, que presentaban poblaciones con resistencia relativa superior a 100 respecto al valor de la CL 50 cuando la *H. irritans* era susceptible a la cipermetrina (Aguirre *et al.*, 1995). Para la mayoría de las muestras al momento de obtenerlas hacía seis meses que no se les estaban aplicando tratamiento con insecticidas. Desde febrero a diciembre de 2003, se capturaron, con redes entomológicas, moscas de bovinos de distintas categorías (según la fecha de extracción) para evaluar la concentración CL50 y la proporción de especímenes homocigotos y heterocigotos según el sexo. Dentro de los 30 minutos de la captura tres grupos de aproximadamente 10 moscas por concentración y grupo control se expusieron sobre los papeles de filtro preparados para tal fin según la técnica de Sheppard & Hinkle (1987). Se utilizó el programa Polo PC (Russell *et al.*, 1977) para estimar la concentración letal 50 (CL 50) y concentración letal 90 (CL 90) derivados de la mortalidad de las poblaciones de *H. irritans* en relación a la dosis, por medio del análisis "probit". Según CL 50 se

estratificó en: CL50 menor 4 µg/cm<sup>2</sup>; entre 4 y 6 µg/cm<sup>2</sup> y mayor de 6 µg/cm<sup>2</sup>. La PCR se realizó sobre muestras de cada una de las poblaciones almacenadas en el freezer hasta su uso.

Para establecer la cantidad de moscas necesarias para determinar la frecuencia de la presencia del kdr, se procesaron 24, 36, 48 y 96 individuos de una misma población. Los resultados obtenidos en los distintos tamaños de muestras, se contrastaron todos entre sí mediante un análisis de Chi-cuadrado. Se determinó que no había diferencia significativa en ninguna de las confrontaciones. De cada una de las muestras de poblaciones obtenidas se tomaron al azar moscas y se les determinó el sexo. El procesamiento de los machos fue diferente a las hembras. Mientras que a los primeros se los utilizó íntegros para la extracción de ADN, en el caso de las hembras se descartó el abdomen de las mismas para evitar datos erróneos por el ADN de los huevos. Para la extracción del ADN genómico, en un tubo Eppendorf de 1,5 ml se colocó una mosca adulta y se la machacó con un triturador de tejidos. Luego se agregó 25 µl de Buffer (100mM Tris pH8,3, 500 mM KCl) y se continuó destruyendo la mosca. Este proceso se realizó en baño de hielo. Luego se colocó el microtubo en baño de agua en ebullición por 3 minutos. Se centrifugó 5 minutos a 14.000 rpm y con una alícuota del sobrenadante se hizo una dilución 1:10 en agua destilada libre de DNAsas y 2 µl de esa dilución fueron usados para la PCR. Mediante esta técnica (Guerrero *et al.*, 1998) se detectó la mutación puntual específica (transición C-T) en cada alelo del gen del canal de sodio asociado a kdr. La técnica consiste en dos reacciones de PCR simultáneas por cada muestra individual de ADN de *H. irritans*. En cada reacción de PCR se utilizan 3 oligonucleótidos iniciadores. Dos de los oligonucleótidos (FG - 129 y FG - 138)

permiten amplificar un fragmento de ADN de aproximadamente 450 bases de longitud y que sirve como control positivo de las reacciones de PCR. El tercer oligonucleótido (FG- 130 o FG - 134) es un "forward" específico para identificar la presencia o no de la mutación puntual asociada a kdr. Este tercer oligonucleótido junto con el FG - 138 permiten amplificar un fragmento de ADN de unas 285 bases de longitud que es el producto de diagnóstico de cada reacción de PCR que se separan mediante electroforesis en geles de agarosa y se visualizan mediante la tinción con bromuro de etidio e iluminación con luz ultravioleta.

Para cada uno de los estratos determinados por la CL50 se comparó la proporción de machos homocigotas susceptibles (ss) vs hembras homocigotas susceptibles (ss), machos heterocigotas (sr) vs hembras

heterocigotas (sr) y machos resistentes homocigotas (rr) vs hembras resistentes homocigotas (rr). La comparación de proporciones según sexo y DL 50 se analizó mediante Chi -cuadrado.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 1 se muestran los valores de CL 50 y CL 90 con límite de confianza del 95%, según procedencia de las poblaciones de moscas estudiadas y el tratamiento al que estaban sometidas en el momento de la recolección de muestra.

En el Cuadro 2 se muestran los resultados obtenidos de genotipo al procesar machos y hembras de *H. irritans* y el porcentaje de la frecuencia de la presencia del alelo kdr en las distintas poblaciones.

*Cuadro 1: Resultados de la evaluación, según procedencia y tratamiento recibido, de CL 50 y CL 90 (límite de confianza del 95%) de las poblaciones estudiadas ( identificadas con un número de orden que se repite en las otras tablas)*

Procedencia	Tratamiento	Fecha	CL 50 (lím. de confianza)	CL 90 (lím. de confianza)
INTA	Sin tratamiento	12-05-03	2,53 (0,14 – 7,75 )	39,62 (12,98 – 661,67)
INTA	Sin tratamiento	18-02-03	2,77 (1,82 – 3,31)	5,26 (4,44 – 7,71)
INTA	Sin tratamiento	19-12-03	3,25 ( 0,56 – 8,72)	27,08 (9,90 – 428,33)
INTA	Ciper+ ethión	04-03-03	3,59 ( 3,13 – 4,11)	8,00 (6,81 – 9,86 )
ROCA	Sin tratamiento	25-02-03	4,12 (2,33 – 6,75)	19,44 (11,46 – 49,07)
INTA	Sin tratamiento	07-09-03	4,44 (3,35 – 5,77)	23,62 (16,69 – 38,02)
INTA	Sin tratamiento	25-11-03	5,03 (2,34 – 9,13)	61,97 (30,35 – 206,89)
INTA	Sin tratamiento	15-04-03	5,12 ( 2,57 – 8,93)	36,66 (19,30 – 111,05)
INTA	Sin tratamiento	14-05-03	5,47 (4,02 – 7,26)	35,06 (24,28 – 57,56)
ROCA	Sin tratamiento	18-03-03	6,91 (1,59 – 19,84)	48,23 (17,32 – 903,99)
INTA	Ciper+tridlorform	08-04-03	7,37 (3,82 – 12,98)	63,70 (32,47 – 195,70)
INTA	Sin tratamiento	21-10-03	7,40 ( 4,68 – 11,01)	56,60 (35,43 – 108,28 )
ROCA	Sin tratamiento	09-04-03	8,29 (3,21 – 17,66)	88,67 (37,29 – 479,51)

De acuerdo a los datos presentado en la tabla 2 existe una preponderancia de la presencia de *kdr* (ss) en todas las poblaciones, aun en las que tienen alta CL50. La población N° 10 es la que muestra la mayor diferencia en el porcentaje de la frecuencia de alelo *kdr* entre machos y hembras.

En el Cuadro 3 se presenta el estudio comparativo entre machos y hembras de acuerdo a la presencia de los distintos genotipos (ss, sr; rr) y estratificado por la CL50.

Los resultados obtenidos demuestran que en los diferentes rangos de DL50 no hubo diferencia significativa entre las proporciones del genotipo de machos y hembras.

La resistencia de la *H. irritans* a los piretroides origina un incremento en los costos del control y el reemplazo por organofosforados lo que implica un mayor riesgo de toxicidad para los bovinos y el personal que los maneja. Las chances que una población resistente revierta la susceptibilidad son es-

Cuadro 2: Resultados de la frecuencia de presentación del gen *kdr* en machos y hembras de las poblaciones estudiadas anteriormente con el mismo N° de orden.

N°	Sexo	Total	Genotipo			Frecuencia de Genotipo%			Frec. alelo <i>kdr</i> (%)
			ss	Sr	rr	ss	sr	rr	
1	Ambos	51	46	5	0	90,2	9,8	0	4,9
	H	28	27	1	0	96,4	3,6	0	1,8
	M	23	19	4	0	82,6	17,4	0	8,7
2	Ambos	48	45	3	0	93,7	6,3	0	3,1
	H	24	23	1	0	95,8	4,2	0	2,1
	M	24	22	2	0	91,7	8,3	0	4,2
3	Ambos	48	39	9	0	81,2	18,8	0	9,4
	H	28	22	6	0	78,6	21,4	0	10,7
	M	20	17	3	0	85,0	15,0	0	7,5
4	Ambos	48	44	4	0	91,7	8,3	0	4,2
	H	24	22	2	0	91,7	8,3	0	4,2
	M	24	22	2	0	91,7	8,3	0	4,2
5	Ambos	48	48	19	0	60,4	39,6	0	19,8
	H	25	24	1	0	56,0	44,0	0	22,0
	M	23	15	8	0	65,2	34,8	0	17,4
6	Ambos	48	41	7	0	85,4	14,6	0	7,3
	H	24	21	3	0	87,5	12,5	0	6,3
	M	24	20	4	0	83,3	16,7	0	8,3
7	Ambos	49	33	16	0	67,3	32,7	0	16,3
	H	25	18	7	0	72,0	28,0	0	14,0
	M	24	15	9	0	62,5	37,5	0	18,8
8	Ambos	54	51	3	0	94,4	5,4	0	2,8
	H	21	21	0	0	100	0	0	0
	M	33	30	3	0	90,9	9,1	0	4,5
9	Ambos	44	38	6	0	86,4	13,6	0	6,8
	H	22	18	4	0	81,8	18,2	0	9,1
	M	22	20	2	0	90,1	9,1	0	4,5
10	Ambos	47	34	13	0	72,3	27,7	0	13,8
	H	21	13	8	0	61,9	38,1	0	19,0
	M	26	21	5	0	80,8	19,2	0	9,6
11	Ambos	48	43	4	1	89,6	8,3	2,1	6,3
	H	24	21	2	1	87,5	8,3	4,2	8,3
	M	24	22	2	0	91,6	8,4	0	4,2
12	Ambos	48	42	6	0	87,5	12,5	0	6,3
	H	20	17	3	0	85,0	15,0	0	7,5
	M	28	25	3	0	89,3	10,7	0	5,3
13	Ambos	48	40	8	0	83,3	16,7	0	8,3
	H	19	16	3	0	84,2	15,8	0	7,9
	M	29	24	5	0	82,7	17,3	0	8,6

Cuadro 3: Análisis de resultados de las proporciones de machos y hembras según la DL 50.

DL 50 µg/cm <sup>2</sup>		$\chi^2$	
menor 4,00	%H ss vs %M ss	0,68	ns
	%H sr vs %M sr	0,68	ns
entre 4,00 y 6,00	%H ss vs %M ss	0,99	ns
	%H sr vs %M sr	0,55	ns
mayor 6,00	%H ss vs %M ss	0,32	ns
	%H sr vs %M sr	0,52	ns
	%H rr vs %M rr	0,99	ns

H: hembras; M: machos; ss: homocigota susceptible; sr: susceptible heterocigoto; rr: resistente homocigoto; ns: no significativa

casas. Sin embargo algunos estudios muestran que podría ser posible que en poblaciones de *H. irritans* resistentes a los piretroides podría revertirse esta característica porque los especímenes de *H. irritans* resistentes a los piretroides aparentan poseer una capacidad biótica disminuida (Scott *et al.*, 1997).

Las poblaciones de moscas se extrajeron de distintas categorías de bovinos que no recibieron tratamiento con cipermetrina en los seis meses previos a la obtención de muestra. Sólo en dos muestreos (Población 4 y 11 -Cuadro 1-) dos meses antes se le había administrado cipermetrina sumado a otro insecticida. La ausencia de la presión del piretroide no sería acompañada en forma inmediata por la disminución de alelos kdr, dado que la frecuencia de los mismos se mantiene por seis o siete años (Jamroz *et al.*, 1998).

La capacidad de la *H. irritans* de desplazarse en y entre los bovinos, aumenta las posibilidades de entrar en contacto con el insecticida, disminuyendo notablemente la cantidad de individuos susceptibles y limitando la probabilidad de tener una población refu-

gio, que puedan atenuar la resistencia.

Los resultados obtenidos en el ensayo realizado muestran un predominio de homocigotas ss en los tres estratos de CL50. Esto estaría indicando que en las poblaciones estudiadas, el mecanismo de inhibición del canal de sodio sería solo uno más de los mecanismos actuantes en la resistencia a los piretroides. Posiblemente habría una preponderancia del incremento de los procesos de detoxificación en los individuos resistentes.

La evaluación de sexo/susceptibilidad no concuerda con los estudios realizados por Guerrero (2002) y Li (2003) que hallaron mayor frecuencia del alelo kdr resistentes en hembras que en machos. En el presente ensayo no se halló diferencias significativas en la proporción de hembras y machos homocigotas (ss; rr) y heterocigotas (sr) en los tres estratos de CL50 estudiados. Los resultados obtenidos indicarían que en estas poblaciones existe cierto grado de independencia del sexo en las modificaciones de susceptibilidad / resistencia del gen kdr, posiblemente porque este mecanismo no es el predominante en la respuesta al biocida.



## AGRADECIMIENTOS

Se agradece a los señores Fernando Seguro y Oscar Warnke por la colaboración prestada en tareas de laboratorio y de campo.

## BIBLIOGRAFÍA

- AGUIRRE, D. H.; ANZIANI, O. S. & GUGLIELMONE, A. A.** 1995. Susceptibilidad a la cipermetrina de poblaciones de *Haematobia irritans* del área central de la Argentina. 3° Sem. Int. Parasitol. Anim. Resistencia y control de garrapatas y moscas de importancia veterinaria. Acapulco. México. Mem: pp 150.
- ANZIANI, O. S.; GUGLIELMONE, A. A.; SIGNORINI, A. R.; AUFRANC, C. & MANGOLD, A. J.** 1993. *Haematobia irritans* in Argentina. *Vet. Rec.* 132: 588.
- BRUCE, W. G.** 1964. The history and biology of the horn fly, *Haematobia irritans* (Linnaeus); with comments on control. *North Carolina Agric. Wxp. Stn., Tech. Bull.*, 157: 5-33.
- FADER, O.** 2001. Resistencia - susceptibilidad de la *Haematobia irritans* (L.1758) a la cipermetrina y al diazinón en el área central de Córdoba. Tesis de Postgrado, Maestría en Ciencias Veterinarias: mención Salud Animal. Universidad Nacional del Litoral, Facultad de Ciencias Veterinarias. Esperanza Santa Fe
- GUERRERO, F. D.; JAMROZ, R. C.; KAMMLAH, S. D. & KUNZ, S. E.** 1997. Toxicological and molecular characterization of pyrethroid-resistant horn flies, *Haematobia irritans*: identification of *kdr* and *super-kdr* point mutations. *Insect. Biochem. Molec. Biol.* Vol 27 N° 8/9: 745-755.
- GUERRERO, F. D.; KUNZ, S. E. & KAMMLAH, D.** 1998. Screening of *Haematobia irritans irritans* (Diptera: Muscidae) populations for pyrethroid resistance - associated sodium channel gene mutations by using a polymerase chain reaction assay. *J. of Med. Entomol.* Vol 5 N° 5: 710 - 715.
- GUERRERO, F. D.; ALLISON, M. W. Jr.; KAMMLAH, D. M. & FOIL, L. D.** 2002. Use of polymerase chain reaction to investigate the dynamics of pyrethroid resistance in *Haematobia irritans irritans* (Diptera: Muscidae) *J. Med. Entomol* 39 (5): 747 - 754.
- GUGLIELMONE, A. A.; KUNZ, S. E.; VOLPOGNI, M. M.; ANZIANI, O. S. & FLORES, S. G.** 1998. Diagnóstico de poblaciones de la *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae) resistentes a la cipermetrina en Santa Fe, Argentina *Rev. Med. Vet. (Bs. As.)* 79: 353-356.
- GUGLIELMONE, A. A.; CASTELLI, M. E.; VOLPOGNI, M. M.; ANZIANI, O. S. & FLORES, S. G.** 1999. Cypermethrin pour sinergized with piperonyl butoxide effects on *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae) natural populations resistant to cypermethrin. *Vet. Parasitol.*, 83: 65 - 72.
- GUGLIELMONE, A. A.; CASTELLI, M. E.; VOLPOGNI, M. M.; MEDUS, P. D.; MARTINS, J. R.; SUAREZ, V. H.; ANZIANI, O. S. & MANGOLD, A. J.** 2001 a. Toxicity of cypermethrin and diazinon to *Haematobia irritans* (Diptera: muscidae) in its American Southern range. *Veterinary Parasitology* 101: 67 - 73.
- GUGLIELMONE, A. A.; CASTELLI, M. E.; VOLPOGNI, M. M.; MEDUS, P. D.; ANZIANI, O. S. & MANGOLD, A. J.** 2001 b. Comparación de la concentración letal 50 de diazinón y cipermetrina para *Haematobia irritans* (Diptera: muscidae) en áreas de producción de leche o carne de Santa Fe y Entre Ríos, Argentina. *Rev. Med. Vet.* Vol 82 N° 4 : 209 - 211.
- HUETH, D. & REGEV, U.** 1974. Optimal agricultural pest management with increasing pest resistance. *Am. J. Agric. Econ.* 56: 543 - 552

## INSECTICIDE RESISTANCE ACTION



- COMMITTEE (IRAC).** 2006. Prevention and management of insecticide resistance in vectors and pests of public health importance. Ch 3: What is resistance and how does it develop?: 8-14; Ch 4 Different approaches to resistance management: 15 - 20; Ch 5 Resistance - management basics: 21 - 26.
- JAMROZ, R. C.; GUERRERO, F. D.; KAMM-LAH, D. M. & KUNZ, S. E.** 1998. Role of the kdr and super-kdr sodium channel mutations in pyrethroid resistance: correlation of allelic frequency to resistance level in wild and laboratory populations of horn flies (*Haematobia irritans*) Insect and Biochemistry and molecular biology 28: 1031 - 1037.
- LI, A. Y.; GUERRERO, F. D.; ALMAZAN GARCIA, C. & GEORGE, J. E.** 2003. Survey of resistance to permethrin and diazinon and the use of a Multiplex polymerase chain reaction assay to detect resistance alleles in the Horn Fly, *Haematobia irritans irritans* (L) J. of Medical Entomology 40 N°6: 942 - 949.
- LOPEZ SOLER, N.** 2008. Evaluación de mecanismos de resistencia a insecticidas en *Frankliniella occidentalis* (Pergande): implicación de carboxilesterasas y acetilcolinesterasa. Tesis. Universidad de Valencia - Servicio de publicaciones, pp. 190. ISBN 978-84-370-7227-2 Edita: Universitat de València.
- LUZURIAGA, R.; EDDI, C.; CARACOSTANTO GOLO, J.; BOTTO, E. & PEREYRA, J.** 1991. Diagnóstico de parasitación con *Haematobia irritans* (L) en bovinos de Misiones Argentina Rev. Med. Vet. (Bs. As.), 72: 262 - 263.
- RUSSELL, R. M.; ROBERTSON, J. L. & SAVIN, N. E.** 1977. POLO: a new computer program for probit analysis. Bull. Entomol. Soc. Am. 23: 209- 213.
- SCOTT, J. A.; PLAPP, F. W. & BAY, D. E.** 1997. Pyrethroid resistance associated with decreased biotic fitness in horn flies (Diptera: Muscidae) Southwest. Entomol., 22: 405-410.
- SHEPPARD, D. C. & HINKLE, N. C.** 1987. A field procedure using disposable materials to evaluate horn fly insecticide resistance. J. Agric. Entomol. 4: 87 - 89.
- TORRES, P. R. & D. C. SHEPPARD.** 1996. Horn fly control with pyrethroids in Argentina. Resistn Pest Management 8: 54-55.
- ZLOTKIN, E.** 1999. The insect voltage-gated sodium channel as target of insecticides. Ann Rev Entomol. 44: 429-455.