

# Susceptibilidad de *Stomoxys calcitrans* (L.) a la permetrina en establos lecheros de Aguascalientes, México

## Susceptibility of *Stomoxys calcitrans* (L.) to permethrin in dairy farms of Aguascalientes, Mexico

Carlos Cruz-Vázquez\* Zeferino García-Vázquez\*\* Manuel Fernández-Ruvalcaba\*\*  
John E. George\*\*\*

---

### Abstract

The purpose of this study was to assess the degree of susceptibility to permethrin in stable fly populations, *Stomoxys calcitrans*, on dairy cattle in Aguascalientes, Mexico. Samples of adult stable fly populations, from sixteen dairies were exposed to two discriminating doses of permethrin in glass vials that represented the LD<sub>50</sub> and LD<sub>99</sub> (0.0014 µg/cm<sup>2</sup> and 0.0026 µg/cm<sup>2</sup>, respectively) of a permethrin susceptible strain. Stable fly populations from all dairies proved to be susceptible to permethrin when compared with the reference strain. This is the first report in Mexico on the susceptibility of stable flies to any insecticide.

**Key words: STABLE FLY, STOMOXYS CALCITRANS, PERMETHRIN SUSCEPTIBILITY, DAIRY CATTLE, MEXICO.**

### Resumen

El objetivo del presente estudio fue evaluar el grado de susceptibilidad a la permetrina en poblaciones de *Stomoxys calcitrans*, en establos lecheros de Aguascalientes, México. Se tomaron muestras de la población de moscas *S. calcitrans* adultas en 16 establos lecheros, siendo expuestas a dos dosis discriminantes de permetrina en viales de vidrio, que representaron la DL<sub>50</sub> y DL<sub>99</sub> (0.0014 µg/cm<sup>2</sup> y 0.0026 µg/cm<sup>2</sup>, respectivamente), de una colonia susceptible a la permetrina. Las poblaciones de *S. calcitrans* de todos los establos evaluados fueron susceptibles a la permetrina cuando se les comparó con la colonia de referencia. Éste es el primer informe en México acerca de la susceptibilidad de la mosca del establo hacia algún insecticida.

**Palabras clave: MOSCA DEL ESTABLO, STOMOXYS CALCITRANS, SUSCEPTIBILIDAD A PERMETRINA, GANADO LECHERO, MÉXICO.**

---

Recibido el 4 de agosto de 2004 y aceptado el 18 de febrero de 2005.

\*Instituto Tecnológico Agropecuario de Aguascalientes, Apartado Postal 74-2, Administración Postal 2, Aguascalientes, 20041, Aguascalientes, México.

\*\*Centro Nacional de Investigaciones Disciplinarias en Parasitología Veterinaria del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural y Pesca, Apartado Postal 206, CIVAC, 62500, Jiutepec, Morelos, México.

\*\*\*Knipling-Bushland U.S. Livestock Insects Research Laboratory, USDA-ARS, 2700, Fredericksburg Road, Kerrville, TX, 78028.

## Introduction

Stable flies, *Stomoxys calcitrans* (L.), constitute an important external hematophagous parasite of dairy cattle kept in stables and beef cattle that is kept in feedlots. This ectoparasite is found all over the world and it can have an economic impact on live-stock production, due to a reduction in weight gain and milk production.<sup>1-3</sup>

Control of stable flies with insecticides generally shows a moderate level of efficacy, due to the fact that the flies have a limited contact with the host while suctioning blood. Sanitary measures such as the periodical removal of feces, feed and forage remnants from the pens, are recommended to achieve a better control of the stable fly in confined cattle populations. Nevertheless, the intensive use of insecticides to control this ectoparasite is quite common, since it is easy to apply. This practice has propitiated reports of resistance of *S. calcitrans* to several chemical compounds such as: DDT, methoxychlor, lindane, chlordane, eldrin, dieldrin, toxaphene and malathion,<sup>4,5</sup> and, more recently, to dichlorvos, stirifos and permethrin.<sup>6</sup>

There is no information available in Mexico about susceptibility of adult stage stable flies to pyrethroid and organophosphate insecticides, even though these compounds have been used regularly in dairy production regions of the country during many years. In Aguascalientes, Mexico, that is a prominent dairy production center, infestation by the stable fly is an important sanitary problem;<sup>7</sup> therefore, different insecticides, especially permethrin, have been employed to control it during many years.

The frequency of insecticide application to control stable flies, has depended upon the abundance of flies and the perception of the owners on when the cows need to be treated and then select the insecticide to be used. In Aguascalientes, susceptibility of stable fly populations to insecticides that are used for their control, has never been evaluated; nevertheless, this information is necessary to design control programs for the strategic use of this resource in the handling of herd health.

The objective of this study was the evaluation of the degree of susceptibility to permethrin of *Stomoxys calcitrans* populations in dairy farms, in the dairy basin of Aguascalientes, Mexico.

*S. calcitrans* adult flies were collected from 16 dairy farms located in the four municipalities that form the dairy basin of the State of Aguascalientes (San Francisco de los Romo, Jesús María, Aguascalientes and Pabellón de Arteaga).<sup>8</sup> These dairy farms were selected since they had a history of continuous permethrin use during 12 to 14 years, with eight to ten

## Introducción

La mosca del establo, *Stomoxys calcitrans* (L.), constituye un importante parásito externo hematofago del ganado lechero estabulado y del ganado de carne mantenido en corral de engorda. Este ectoparásito se presenta en todo el mundo y puede tener un impacto económico en la producción ganadera debido a que causa reducción en la ganancia de peso y en la producción de leche.<sup>1-3</sup>

El control de la mosca del establo con insecticidas generalmente muestra una moderada eficacia debido a que las moscas tienen un periodo de escaso contacto con el portador mientras realizan la hemossucción; las medidas sanitarias, como la remoción periódica del estiércol y los desperdicios de alimento y forraje de los corrales, son recomendadas para lograr un mejor control de la mosca del establo en el ganado confinado. Sin embargo, es práctica común el uso intensivo de los insecticidas en el control de este ectoparásito, ya que representa un alternativa de fácil aplicación. Esta práctica ha propiciado informes de resistencia en *S. calcitrans* a diversos compuestos, como el DDT, metoxicloro, lindano, clordano, eldrin, dieldrin, toxafeno y malation,<sup>4,5</sup> y más recientemente a diclorvos, estirifos y permetrina.<sup>6</sup>

En México no se cuenta con información disponible acerca de la susceptibilidad de las poblaciones de estados adultos de mosca del establo hacia insecticidas piretroides y organofosforados, a pesar de que estos compuestos se han utilizado regularmente en las regiones productoras de leche del país durante muchos años. En Aguascalientes, México, que es un prominente centro productor de leche, la infestación por mosca del establo es un importante problema sanitario,<sup>7</sup> por ello diferentes insecticidas, en especial la permetrina, han sido empleados para su control a lo largo de los años.

La frecuencia de aplicación de insecticidas para el control de la mosca del establo, ha dependido de la abundancia de moscas y de la percepción de los propietarios acerca de cuándo las vacas necesitan ser tratadas, los ganaderos seleccionan el insecticida que será utilizado. En Aguascalientes, la susceptibilidad de las poblaciones de mosca del establo a los insecticidas empleados en su control nunca ha sido evaluada; sin embargo, esta información es necesaria para diseñar programas de uso estratégico de este recurso en el manejo de la salud del hato.

El objetivo del presente estudio fue evaluar el grado de susceptibilidad a la permetrina en poblaciones de *Stomoxys calcitrans*, presentes en establos de la región lechera de Aguascalientes, México.

Moscas *S. calcitrans* adultas fueron colectadas de 16 establos ubicados en los cuatro municipios

applications per year by aspersion of the dairy cattle at a general dose of 100 mL of 5% active ingredient compound per adult cow.

The bioassay was performed in 20 mL glass vials that were previously treated with one of two discriminating doses (DD) of permethrin (0.0014  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  and 0.0026  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ). DD represent, respectively, the DL<sub>50</sub> and DL<sub>99</sub> values obtained from the analysis of permethrin mortality-dose, in a susceptible *S. calcitrans* colony maintained *in vitro* in the laboratory.\* The glass vials were treated with technical-grade permethrin using acetone as a diluent. Aliquots of the solution at the corresponding DD concentrations were deposited in each of the vials that were then rotated on their side until the acetone evaporated, in order to leave a layer of permethrin covering the surface. The vials were covered and maintained in the dark at laboratory temperature during 24 hrs. prior to their use.<sup>6,9</sup>

Each stable was visited during September 2001 to collect, with the help of an entomological trap, *S. calcitrans* adult flies that were resting on the walls next to the cattle pens and then they were transferred into a transparent plastic cage, as indicated by Kunz *et al.*<sup>9</sup> When the cage had approximately 100 flies, they were immediately transported to the laboratory and exposed to the treated vials within 30 to 45 minutes after their capture. Flies not separated by sex, of different ages (20 per vial) were used in each susceptibility bioassay, representing a randomly assigned sample of the field collection, according to criteria indicated in literature.<sup>10</sup> The bioassays were carried out at laboratory temperature (23°C to 25°C); each treatment consisted of three replicates including a control (flask vial with only acetone). Mortality was recorded two hours after the flies were placed in the glass vials, any fly that could not remain standing was considered to be dead. For each treatment, mortality was adjusted using the Abbott formula.<sup>11</sup>

$$\text{Adjusted mortality (\%)} = \frac{(\% \text{ treatment mortality} - \% \text{ control mortality}) \times 100}{100 - \% \text{ control mortality}}$$

Data were analyzed by one-way variance analysis, using the mean separation test of Student-Newman-Keuls<sup>12</sup> ( $P < 0.05$ ), with a totally random design with three replicates (two DD and control) for each stable.<sup>13</sup>

The results indicated that *S. calcitrans* populations in all visited stables, were susceptible to permethrin when compared to the reference colony. Mortality average with DL<sub>50</sub> in the 16 stables was located in the range between 60% to 70%, while all the flies exposed to DL<sub>99</sub> died (Table 1); there were differences between

que integran la región lechera del estado de Aguascalientes (San Francisco de los Romo, Jesús María, Aguascalientes y Pabellón de Arteaga).<sup>8</sup> Estos establos fueron elegidos por tener de 12 a 14 años de historia en el uso continuo de permetrina, realizando de ocho a diez aplicaciones al año mediante aspersion en el ganado lechero; generalmente se aplican 100 mL/vaca adulta del compuesto que contiene 5% del ingrediente activo.

El bioensayo se realizó en viales de vidrio de 20 ml que fueron tratados previamente con una de dos dosis discriminantes (DD) de permetrina (0.0014  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  y 0.0026  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ). Las DD representaron la DL<sub>50</sub> y DL<sub>99</sub>, respectivamente, de los valores obtenidos del análisis de dosis-mortalidad a la permetrina en una colonia de *S. calcitrans* susceptible mantenida *in vitro* en laboratorio.\*

Los viales de vidrio fueron tratados con permetrina en grado técnico usando acetona como diluyente, se depositaron alícuotas de la solución en la concentración correspondiente a las DD en cada vial; los viales fueron rotados sobre su lado hasta que la acetona se evaporó, con el objetivo de dejar una capa de permetrina sobre toda la superficie. Los viales fueron tapados y mantenidos en oscuridad a temperatura de laboratorio durante 24 horas antes de su uso.<sup>6,9</sup>

Cada establo fue visitado durante septiembre de 2001 para coleccionar, con ayuda de una trampa entomológica, moscas adultas de *S. calcitrans* que se encontraran descansando en las paredes adyacentes a los corrales de alojamiento del ganado y fueron transferidas a una jaula de plástico transparente, de la forma en que indican Kunz *et al.*<sup>9</sup> Cuando la jaula contenía aproximadamente 100 moscas, fueron transportadas inmediatamente al laboratorio, siendo expuestas a los viales tratados dentro de los 30 a 45 minutos posteriores a su captura. Moscas no sexadas de diferentes edades (20 por vial) fueron usadas en cada bioensayo de susceptibilidad, representando una muestra al azar de la colecta de campo, de acuerdo con el criterio marcado en la literatura,<sup>10</sup> los bioensayos fueron desarrollados a temperatura de laboratorio (23°C a 25°C); cada tratamiento consistió de tres réplicas incluyendo un testigo (un vial de vidrio tratado únicamente con acetona).

La mortalidad fue registrada dos horas después de que las moscas fueron colocadas en los viales de vidrio, considerando como muerta a la mosca que no fuera capaz de mantenerse en pie.

Para cada tratamiento la mortalidad fue ajustada empleando la fórmula de Abbott.<sup>11</sup>

---

\*Knipling-Bushland U.S. Livestock Insect Research Laboratory, Kerrville, TX, USA.

mortalities observed with the two discriminating doses evaluated in the study. (F = 4 178.41; gL = 2, 142, 144; P = 0.0001). This is the first report in Mexico on *S. calcitrans* field population's susceptibility to any type of insecticide.

Even though permethrin has been used for a long time to control *S. calcitrans* flies in the study area, genetic selection to develop resistance to this insecticide has not occurred. Several factors may be involved in this low selection pressure. Initially, we must take into consideration that infestation by this fly in Aguascalientes is seasonal;<sup>7</sup> due to this reason, permethrin applications are restricted only to the months of summer and early autumn; along with the fact that the feeding habits of *S. calcitrans* allow scarce contact time with cattle, since the feeding is intermittent. Also, this fly has a tendency to disperse after emergence,<sup>3</sup> event that could be promoted by the

$$\text{Mortalidad ajustada (\%)} = \frac{(\% \text{ mortalidad tratamiento} - \% \text{ mortalidad testigo}) \times 100}{100 - \% \text{ mortalidad en el testigo}}$$

Los datos fueron analizados mediante análisis de varianza de una vía, utilizando la prueba de separación de medias de Student-Newman-Keuls<sup>12</sup> (P < 0.05), usando un diseño completamente al azar con tres réplicas (dos DD y el testigo) para cada estable.<sup>13</sup>

Las poblaciones de *S. calcitrans* en todos los establos visitados resultaron susceptibles a la permetrina, cuando se les comparó con la colonia de referencia. El promedio de mortalidad con la DL<sub>50</sub> en los 16 establos se ubicó en un rango de 60% a 70%, mientras que todas las moscas expuestas a la DL<sub>99</sub> murieron (Cuadro 1); se encontraron diferencias entre la mortalidad observada con las dos dosis discriminantes evaluadas en el estudio (F = 4 178.41; gL = 2, 142,

**Cuadro 1**

PORCENTAJE DE MORTALIDAD DE MOSCAS *S. calcitrans* EN EL BIOENSAYO EN VIALES DE VIDRIO CON DOSIS DISCRIMINANTES DE PERMETRINA, EN 16 ESTABLOS LECHEROS DE AGUASCALIENTES, MÉXICO

MORTALITY PERCENTAGE OF *S. calcitrans* FLIES BY BIOASSAY IN GLASS VIALS WITH DISCRIMINATING DOSES OF PERMETHRIN, IN 16 DAIRY FARMS OF AGUASCALIENTES, MEXICO

Dairy Farm	Control	Doses	
		0.0014 g/cm <sup>2</sup>	0.0026 g/cm <sup>2</sup>
1	1.6	60	100
2	0	70	100
3	0	65	100
4	0	60	100
5	1.6	65	100
6	0	65	100
7	1.6	60	100
8	0	65	100
9	1.6	60	100
10	0	70	100
11	0	70	100
12	0	65	100
13	1.6	65	100
14	0	70	100
15	0	60	100
16	0	65	100
Susceptible colony <sup>a</sup>	0	50	100

<sup>a</sup> Recorded mortality in the susceptible colony

type of open stables that are common in the region; these elements, no doubt, promote the reduction of the selection rate by insecticide resistance. Other studies have found that the intensive and prolonged insecticide use during fly season, causes a higher selection pressure for the development of resistance, but it does not guarantee its development.<sup>5,6</sup>

The technique that was used in this study is based on the presence of insecticide residue in the glass vials, and it has been used repeatedly to evaluate the susceptibility of *S. calcitrans* adult flies to organophosphates and pyrethroid insecticides;<sup>6,10</sup> nevertheless, the technique has been previously used for similar purposes in the horn fly, *Haematobia irritans*.<sup>9,14,15</sup>

In conclusion, this study has found that *S. calcitrans* populations in the study region are susceptible to permethrin, this indicates that its use may be continued in the region; on the other hand, the discriminating doses assay may be used periodically to follow-up *S. calcitrans* insecticide susceptibility, as part of a regional effort to develop integral management of infestation that may help reduce the adverse effect of *S. calcitrans* on dairy production.

## Acknowledgements

We thank dairy cattlemen of Aguascalientes, Mexico for their valuable collaboration. This study was financed by the National Technological Education System Council of the Ministry of Public Education.

## Referencias

1. Bruce WN, Decker GC. The relationship of stable fly abundance to milk production in dairy cattle. *J Econ Entomol* 1958; 51: 269-274.
2. Campbell JB, Berry IL, Boxler DJ, Davis RL, Clanton DC, Deutscher GH. Effects of stable flies (Diptera:Muscidae) on weight gain and feed efficiency on feedlot cattle. *J Econ Entomol* 1987; 80: 117-119.
3. Foil LD, Hogsette JA. Biology and control of tabanids, stable flies and horn flies. *Rev Sci Tech* 1994; 13: 1125-1158.
4. Drummond RO. Resistance in ticks and insects of veterinary importance, In: Watson DL, Brown AW, editors. *Pesticide Management and Insecticide Resistance*. Washington:Academic, 1977:303-319.
5. Kunz SE, Kemp DH. Insecticides and acaricides: Resistance and environmental impact. *Rev Sci Tech* 1994; 13 : 1249-1286.
6. Cilek JE, Greene GL. Stable fly (Diptera:Muscidae) insecticide resistance in Kansas cattle feedlots. *J Econ Entomol* 1994; 87: 275-279.
7. Cruz-Vázquez C, Martínez RS, Vitela MI, Ramos PM, Quintero MT, García-Vázquez Z. Variación anual de la infestación por *Stomoxys calcitrans* (L.)

144; P = 0.0001). Este es el primer informe en México sobre la susceptibilidad en poblaciones de campo de *S. calcitrans* a cualquier insecticida.

A pesar del largo tiempo que se ha empleado la permetrina en el control de la mosca *S. calcitrans* en la zona de estudio, la selección genética para la evolución de la resistencia a este insecticida no ha ocurrido; diversos factores pueden estar involucrados en esta baja presión de selección. Inicialmente se debe considerar que la infestación por esta mosca en Aguascalientes es de carácter estacional;<sup>7</sup> por esta razón las aplicaciones de permetrina se restringen sólo a los meses de verano e inicio del otoño; aunado a este hecho, se debe de considerar también que los hábitos alimentarios de *S. calcitrans* permiten un escaso tiempo de contacto con el ganado, ya que se alimentan de manera intermitente; asimismo, existe la tendencia en esta mosca de dispersarse después de la emergencia,<sup>3</sup> evento que pudiera favorecerse en el sistema de alojamiento de estabulación libre, imperante en la región; estos elementos, sin duda, favorecen la reducción en la tasa de selección para la resistencia al insecticida. Otros estudios han encontrado que el uso intensivo y prolongado de insecticidas durante la temporada de moscas, provoca mayor presión de selección para la evolución de resistencia, pero no garantiza su desarrollo.<sup>5,6</sup>

La técnica empleada en el presente estudio, basada en la presencia de residuos del insecticida en viales de vidrio, ha sido usada repetidamente en la evaluación de la susceptibilidad en moscas adultas de *S. calcitrans* a insecticidas organofosforados y piretroides;<sup>6,10</sup> sin embargo, la técnica ha sido empleada previamente para similares propósitos en la mosca del cuerno, *Haematobia irritans*.<sup>9,14,15</sup>

En conclusión, en este trabajo se ha encontrado que las poblaciones de *S. calcitrans* en la región estudiada son susceptibles a la permetrina, lo que indica que su uso puede continuarse en la región; por otra parte, el ensayo de dosis discriminantes para dar seguimiento a la susceptibilidad de *S. calcitrans* a insecticidas, puede ser usado periódicamente como parte de un esfuerzo regional para desarrollar e instrumentar un manejo integrado de la infestación que ayude a reducir el efecto adverso de *S. calcitrans* en la producción de leche.

## Agradecimientos

Se agradece la valiosa colaboración de los productores de leche de Aguascalientes, México. Este estudio fue financiado por el Consejo del Sistema Nacional de Educación Tecnológica de la Secretaría de Educación Pública.

- (Diptera:Muscidae) en ganado lechero estabulado de Aguascalientes, México. Tec Pecu Mex 2000; 30: 205-208.
8. Cruz-Vázquez C, Vitela MI, Ramos PM, Quintero MMT, García-Vázquez Z. Presencia de *Haematobia irritans* (L.) (Diptera:Muscidae) en ganado lechero estabulado de Aguascalientes, México: Informe preliminar. Vet Mex 1999; 30: 205-208.
  9. Kunz SE, Ortiz EM, Fragoso SH. Status of *Haematobia irritans* (Diptera:Muscidae) insecticide resistance in northeastern Mexico. J Med Entomol 1995; 32: 726-729.
  10. Mar on PCRG, Thomas GD, Siegfried BD, Campbell JB. Susceptibility of stable flies (Diptera:Muscidae) from southeastern Nebraska beef cattle feedlots to selected insecticides and comparison of 3 bioassay techniques. J Econ Entomol 1997; 90: 293-298.
  11. Abbott WS. A method of computing the effectiveness of an insecticide. J Econ Entomol 1925; 18: 265-267.
  12. Scheffé HA. A method for judging all contrast in the analysis of variance. Biometrika 1953; 40: 87-104.
  13. Steel RGD, Torrie JH. Bioestadística, principios y procedimientos. México:McGraw-Hill, 1988.
  14. Cilek JE, Knapp FW. A field test kit for the determination of insecticide resistance in horn fly populations. J Agric Entomol 1986; 3: 201-206.
  15. Sheppard DC, Hinkle NC. A procedure for evaluation of horn fly, *Haematobia irritans* (L.), pyrethroid resistance by exposure to pyrethroid residues on glass. J Agric Entomol 1986; 3: 100-102.