

ORIGINAL

Effect of the use of fluazuron for control of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in cattle

Efecto del uso de fluazurón para control de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en bovinos

Efraín Benavides O^{1*} Ph.D, Pablo Jiménez C² MV, Oscar Betancur H³ Ph.D,
Gabriel Vélez C⁴ Ph.D, Natalia Polanco P⁵ Zoot, Jorge Morales P⁶ MV.

¹Universidad de La Salle, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Centro de Investigación en Medicina y Reproducción Animal, CIMRA, Cra. 7 No-179-03, Bogotá, Colombia. ²University of Georgia, Department of Infectious Diseases, College of Veterinary Medicine, USA, ³Global Bio Protection Technical Consultant, Elanco Animal Health, ⁴Asocebú - Ganadería San Gabriel, Fusagasugá, ⁵Universidad Estatal de Campinas, Instituto de Economía, Campinas, São Paulo, Brasil; ⁶Médico Veterinario, práctica particular. *Correspondencia: efbenavides@unisalle.edu.co;

Received: September 2016; Accepted: January 2017.

ABSTRACT

Objective. To demonstrate the effect on the tick population of the use of fluazuron in grazing cattle. **Materials and methods.** Case study performed in Fusagasuga (Cundinamarca, Colombia); three groups of 25 heifers each were formed, G1= two applications of Fluazuron separated 60 days, G2= fluazuron applied only on study day 0 and G3= treated with a spray of chlorpyrifos. Periodically tick count was done in five animals of each group and the degree of contamination of pastures with tick larvae was determined by dragging. **Results.** Infestation levels between the groups were not homogeneous, and the paddocks also showed different levels of larval infestation. The compound was useful for protecting animals from tick infestation for more than eight weeks. Given the soil temperature in the region, the adult larva period is fulfilled between 50 and 65 days. **Conclusion.** The effect of treatment of cattle with fluazuron on larval contamination of pastures will only be reflected almost two months after treatment. Strategic design schemes must consider this component, of the soil temperature.

Keywords: Acaricide, Chitin synthesis inhibitors, Integrated Pest Management, Parasitology, ticks, acaricide (*Sources: AGROVOC, NLM*).

RESUMEN

Objetivo. Demostrar el efecto poblacional sobre la garrapata del uso de fluazurón en ganado en pastoreo. **Materiales y métodos.** Estudio de caso realizado en Fusagasugá (Cundinamarca, Colombia); se conformaron tres grupos de 25 novillas cada uno, G1= dos aplicaciones de Fluazurón separadas 60 días, G2= fluazurón sólo el día 0 del estudio y G3= tratado por aspersión con Clorpirifos. Se hizo periódicamente recuento de teleoginas en cinco bovinos de cada grupo y se determinó el grado de contaminación de praderas con larvas de garrapata, mediante rastreo. **Resultados.** Los niveles de infestación entre los grupos no fueron homogéneos, y los potreros también demostraron diversos niveles de infestación larvaria. El compuesto fue útil para proteger a los animales de la infestación por garrapatas por más de ocho semanas. Dada la temperatura del suelo en la región, el período adulto larva se cumple entre 50 y 65 días. **Conclusión.** El efecto del tratamiento del ganado con fluazurón sobre la contaminación larvaria de las praderas, sólo se reflejará casi dos meses después del tratamiento. El diseño de esquemas estratégicos debe considerar este componente, de la temperatura del suelo.

Palabras clave: Acaricida, Garrapatas, Inhibidores de síntesis de quitina, Manejo Integrado de Plagas, Parasitología (*Fuentes: AGROVOC, NLM*).

INTRODUCTION

The cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* is an ectoparasite of bovine cattle endemic up to the American tropics, distributed in Colombia to about 2800 m.a.s.l. (1). The persistent presence of ticks on farms has led to the intensive use of various types of medicines (ecto-parasiticides), in an attempt by producers to achieve control. Most experts agree that the use of compounds has led to the development of various levels of resistance to most compounds that have been introduced into the market for tick control (2-5). In Colombia, multi-resistant tick strains have been described for various types of molecules, specifically organophosphates, synthetic pyrethroids and amitraz, as is the case with the Montecitos strain, isolated in the Department of Santander (6).

An alternative for tick control in situations where resistance to various types of molecules occurs, is the use of compounds with different modes of action, such as chitin inhibitors (7-9). Chitin is a complex amino polysaccharide and an important component of the arthropod cuticle. During each molt it has to be formed again by polymerization of individual sugar molecules (7).

Fluzuron (Acatak®, Elanco Animal Health) is a benzophenyl urea that has shown to be effective against ticks, particularly against the common cattle tick, *R. microplus* (8,10). A characteristic of this type of compound is that it acts on different phases of the life cycle of the arthropod, when its immature stage is exposed to the compound, it is not able to complete the ecdysis and in consequence, it dies during the molting process. Benzophenylureas also have transovarian effects; When female ticks produce eggs in which the compound has been incorporated into the nutrients of the egg, the development of the vitellum normally occurs, but the larvae that develop are unable to hatch (7).

Because there is not extensive information on the population effects of the use of this type of compounds for tick control in cattle in tropical conditions, the objective was to establish, through tick count in animals and prairies, the effect of fluid applications in cattle over the tick population dynamics.

MATERIALS AND METHODS

Experimental design, location and animals.

This research is a case study, based on observations on groups of animals, where each group grazed in an independent paddock (11).

INTRODUCCIÓN

La garrapata del ganado *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* es un ectoparásito del ganado bovino endémico del trópico americano, se distribuye en Colombia en regiones hasta cerca de 2800 m.s.n.m. (1). La persistente presencia de garrapatas en las fincas ha implicado un intenso uso de diversos tipos de fármacos (ecto-parasiticidas) en un intento de los productores por alcanzar su control. La mayoría de expertos coincide en afirmar que este uso indiscriminado de compuestos ha conducido al desarrollo de diversos niveles de resistencia hacia la mayoría de compuestos que se han introducido al mercado para el control de garrapatas (2-5). En la situación de Colombia se han descrito cepas de garrapata multi-resistentes a diversos tipos de molécula, específicamente los organofosforados, los piretroides sintéticos y el amitraz, como es el caso de la cepa Montecitos aislada en el departamento de Santander (6).

Una alternativa para el control de garrapatas ante estas situaciones donde ocurre resistencia a diversos tipos de molécula, es el uso de compuestos con modo de acción diferente, como pueden ser los inhibidores de quitina (7-9). La quitina es un amino polisacárido complejo y un componente importante de la cutícula de los artrópodos. Durante cada muda tiene que formarse de nuevo por polimerización de moléculas individuales de azúcar (7).

El fluzurón (Acatak®, Elanco Animal Health) es una benzofenil urea que ha demostrado eficacia contra garrapatas, particularmente contra la garrapata común del ganado, *R. microplus* (8,10). Una característica de este tipo de compuestos es que actúan sobre diversas fases del ciclo de vida del artrópodo, cuando etapas inmaduras se exponen a estos compuestos no son capaces de completar la ecdisis y como consecuencia mueren durante el proceso de muda. Las benzofenilureas también poseen efecto transovárico; cuando garrapatas hembra producen huevos en los que se ha incorporado el compuesto dentro de los nutrientes del huevo, el desarrollo del vitelo transcurre normalmente, pero las larvas que se desarrollan son incapaces de eclosionar (7).

Debido a que no existe amplia información sobre los efectos poblacionales del uso de este tipo de compuestos para el control de la garrapata del ganado en condiciones del trópico, se planteó como objetivo establecer, mediante recuentos de garrapatas en animales y en praderas, el efecto de aplicaciones de fluzurón en el ganado sobre la dinámica poblacional de las garrapatas.

The objective of the study was to show the effect, on tick populations in paddocks and animals, of one or two applications of fluzaron on animals. The research was carried out at a commercial farm located in Fusagasugá (Cundinamarca, Colombia), at 1726 m.a.s.l., with an average temperature of 20°C, where *Bos taurus* x *Bos indicus* crossbred heifers are kept. The company is dedicated to the production of embryos and manages various groups of fast growing heifers (Figure 1), which leads to an ideal weight (weight over 300 kg) before being synchronized and implanted.



Figure 1. Breed make-up (*Bos taurus* x *Bos indicus*) Of the heifers used in the study.

In the recent past, the farm had several problems related to tick control in these animals, which involved frequent use of tick-killing agent baths with various products; The farmer mentioned that tick problems fluctuated in intensity in relation to the time of year and the pattern of grassland use, sometimes requiring treatments every three or four weeks. The farm paddocks are constituted by native grass and various levels of coverage with African Bermuda grass (*Cynodon nlemfluensis*).

Three groups of 25 heifers each were formed, grazing in different pastures, using two alternating areas for each group. The groups were randomly assigned to one of three tick-pesticide treatments as follows: G1=two separate Fluzaron applications 60 days, G2=Fluzaron application only on day 0 of the study, and G3=spray-treated cattle with Chlorpyrifos EC24%® (the last product to be applied with relative success on the farm). One week before the study (day -7), the animals were weighed and a general observation was made on the level of tick infestation in the animals that until this point, they were all in the same paddock. The animals were randomly assigned to the groups, ensuring that all groups had a similar weight and breed make-up (11).

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño, localización y animales experimentales. Esta investigación corresponde a un estudio de caso, basado en observaciones sobre grupos de animales, donde cada grupo pastoreó en un potrero independiente (11). El objetivo del estudio fue demostrar el efecto, sobre las poblaciones de garrapatas en potreros y animales, de una o dos aplicaciones de fluzaron sobre los animales. La investigación se desarrolló en una finca comercial ubicada en Fusagasugá (Cundinamarca, Colombia), a 1726 m.s.n.m., con una temperatura promedio de 20°C, donde se mantienen novillas de levante de alto mestizaje *Bos taurus* x *Bos indicus*. La empresa se dedica a la producción de embriones y maneja diversos grupos de novillas de levante de rápido crecimiento (Figura 1), las que lleva hasta un peso ideal (pesos superiores a 300 kg) antes de ser sincronizadas e implantadas.

En la finca en el pasado reciente se habían tenido diversos problemas relacionados con el control de garrapatas en estos animales, implicando un uso frecuente de baños garrapaticidas con diversos productos; se indicó por parte del ganadero, que los problemas por garrapatas fluctuaron en intensidad según la época del año y el patrón de uso de las praderas, requiriendo en ocasiones tratamientos cada tres o cuatro semanas. Los potreros de la finca están constituidos por grama nativa y diversos niveles de cobertura con Pasto Estrella (*Cynodon nlemfluensis*).

Se conformaron tres grupos de 25 novillas cada uno, pastoreando en diferentes potreros, usando dos áreas de forma alterna para cada grupo. Los grupos se asignaron al azar a uno de tres grupos de tratamiento garrapaticida de la siguiente manera: G1= dos aplicaciones de Fluzaron separadas 60 días, G2= aplicación de fluzaron sólo el día 0 del estudio y G3= bovinos tratados por aspersión con Clorpirifos EC24%® (el último producto que se venía aplicando con relativo éxito en la finca). Una semana antes del estudio (día -7) los animales se pesaron y se hizo una observación general del nivel de infestación por garrapatas de los animales que hasta el momento estaban todos en el mismo potrero, los animales se asignaron aleatoriamente a los grupos, pero asegurando que todos los grupos tuviesen un peso y constitución racial similar (11).

Para el desarrollo de la investigación se asignaron seis potreros de similar tamaño, de forma que cada grupo pastoreaba en dos potreros de forma alterna, según la disponibilidad de forraje en cada potrero. En conjunto con el personal de la finca, se realizó la ubicación física de los potreros

To develop the research, six pasture sites of similar size were assigned, so that each group grazed in two paddocks alternately, depending on the fodder availability in each paddock. In conjunction with the farm staff, the physical location of the paddocks was established, with the use of landmarks, the farm was located with the help of Google Maps® in order to design the larval sampling schemes in the prairies (Figure 2). Group 1 was assigned to prairies 1A and 1B, group 2 to prairies 2A and 2B and group 3 to prairies 3A and 3B. Each paddock was enclosed by an electric fence.

Tick Control Treatments. Day 0 of the experiment was December 20, 2013. At that time, groups 1 and 2 received a pour-on application of Fluzaron (Acatak®, Elanco Animal Health) at the dose of 2.5 mg / Kg, which is equivalent to administering 10 ml of solution (25 g / liter) per 100 kg of animal weight. Group 1 received a second application of Fluzaron on February 18 (60 days after the first application). As for the control group that received spray treatment with Chlorpyrifos EC24%® at an effective concentration of 2.4 g of active compound per liter of spray, the animals were treated according to the level of infestation observed and received treatments on December 20 , January 17, March 18 and April 23.

Tick Population. To determine the density of adult ticks in the animals of each group, a complete count of standard ticks was performed on five pre-selected animals of each group, using

y con el uso de puntos de referencia se ubicó la finca con la ayuda de Google Maps para así poder diseñar los esquemas de muestreo de larvas en las praderas (Figura 2). El grupo 1 fue asignado a las praderas 1A y 1B, el grupo 2 a las praderas 2A y 2B y el grupo 3 a las praderas 3A y 3B. Cada potrero estaba demarcado con cerca eléctrica.

Tratamientos garrapaticidas. El día 0 del experimento fue el 20 de diciembre de 2013. En esa fecha los grupos 1 y 2 recibieron una aplicación epicutánea por vertimiento dorsal (pour-on) de Fluzaron (Acatak®, Elanco Animal Health) a la dosis de 2.5 mg/kg, lo cual es equivalente a administrar 10 ml de solución (de 25g/litro) por cada 100 kg de peso del animal. El grupo 1 recibió una segunda aplicación de Fluzaron el 18 de febrero (60 días luego de la primera aplicación). En cuanto al grupo control que recibió tratamiento por aspersión con Clorpirifos EC24%® a una concentración efectiva de 2.4 g de producto activo por litro de aspersión, los animales se trataron acorde con el nivel de infestación observado y recibieron tratamientos el 20 de diciembre, 17 de enero, 18 de marzo y 23 de abril.

Determinaciones poblacionales de la garrapata. Para determinar la densidad de garrapatas adultas sobre los animales de cada grupo se realizó un recuento completo de garrapatas estándar en cinco animales predeterminados de cada grupo, utilizando el método de Wharton & Utech (12) que consiste en el recuento de garrapatas mayores a 4.5 mm de longitud por un

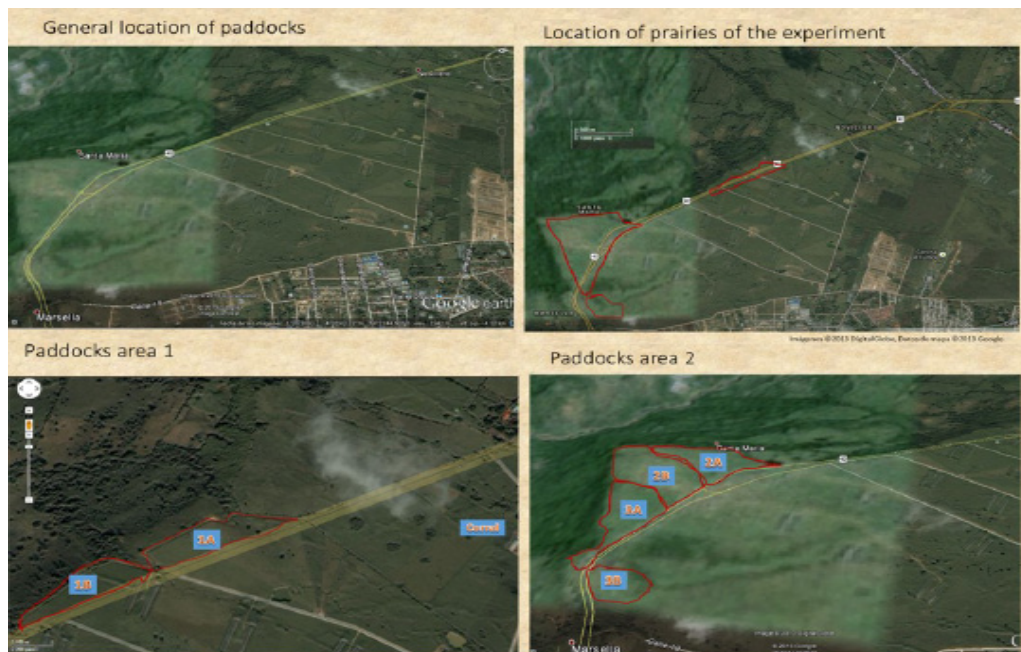


Figure 2. Map preparation of the experimental prairies with the help of Google Maps® to determine areas and transects in which the estimation of the population of larvae in the prairies was carried out.

the Wharton & Utech method (12) which counts ticks of size greater than 4, 5 mm long on the side of the animal. These are the engorged females that will fall in the following 24-hours, thus establishing the daily tick density of the animal (12,13). Additionally, an observation and / or scraping was performed on the neck side to determine the occurrence of immature tick stages, which was recorded as absence, or subjective intensity of the presence of immature tick stages (14).

The degree of contamination of each of the praries with tick larvae was done using the flag-tracking method (15,16) in which 1m x 1m white cloths were adhered to a wooden frame or cardboard, to allow vertical contact with the grass tips (Figure 3). This larva tracking method is based on counting the number of larvae captured on the cloth after the operator crosses a transect. For erect growth pastures, it is better than the fabric tracking method (15,17). A transect is defined as a path of 50 to 70 meters long, which is traversed by a person who carries the cloth with which the larvae are collected in the prairies. After completing the route, the operator counts the number of larvae that adhered to the fabric (16). Twelve transects were examined in each paddock per sampling day, randomly attempting to cover all sections of the area. The altitude of the pasture and the meteorological conditions prevailing on the day of each evaluation were recorded.

lado del animal, correspondientes a las hembras ingurgitadas que caerán en las próximas 24 horas, de esta manera se logra establecer la densidad diaria de garrapatas por animal (12,13). Adicionalmente se realizó una observación y/o raspado en la tabla del cuello para determinar la ocurrencia de estadios inmaduros de la garrapata, lo cual se registró como ausencia, o la intensidad subjetiva de la presencia de estadios inmaduros de la garrapata (14).

El grado de contaminación de cada una de las praderas con larvas de garrapata, se realizó utilizando el método de rastreo por bandera (15,16) en el cual se utilizaron lienzos de tela blanca de 1m x 1m que fueron adheridos a un bastidor de madera o cartulina, para permitir su contacto vertical con los extremos del pasto (Figura 3). Este método de rastreo de larvas de garrapatas se basa en contar el número de larvas capturadas en la tela luego de que el operario recorre un transecto y para pasturas de crecimiento erecto es mejor que el método del rastreo con telas (15,17). Un transecto se define como un trayecto de entre 50 y 70 metros de longitud, el cual es recorrido por quien lleva las telas con las que se recogen las larvas en las praderas. Luego de realizado el recorrido el operario cuenta el número de larvas que se adhirieron a la tela (16). En cada potrero se examinaron doce transectos por cada día de muestreo, aleatoriamente tratando de cubrir todas las secciones del área. Se registraron la altitud del pasto y las condiciones meteorológicas imperantes el día en que se realizó cada evaluación.



Figure 3. Use of the flag tracking method to determine the level of contamination of grass with tick larvae. Each operator walks a path of 50-70 m (transect) and determines the number of larvae caught in the fabric. On each evaluation date twelve random transects were established in each paddock.

Biotic parameters of ticks in the laboratory.

In order to determine the development times of the non-parasitic phases according to temperature, teleogines were collected and taken to the laboratory, where they were kept in an incubator at 23°C, to allow oviposition and larval hatching, thus calculating the duration of the adult-larva period (PAL), according to what several authors have described (11,18)

Statistical analysis. A descriptive data analysis was performed, based on the preparation of fluctuation curves over time for tick counts on animals and larvae found in the prairies. Individual tick counts were transformed on a logarithmic scale to determine geometric averages (12,17).

RESULTS

The research took place for 18 weeks in the first semester of the year, evaluating in a consecutive way levels of infestation of the animals and degree of contamination of the prairies with tick larvae. The parasite density observed over time in all three groups is shown in figure 4. On day -7 of the experiment, when animals were assigned to groups, levels of infestation were moderate (2-3 ticks per animal) but similar in all three groups.

Parámetros bióticos de la garrapata en el laboratorio.

Para determinar los tiempos de desarrollo de las fases no parasíticas acorde con la temperatura, se recolectaron teleoginas y se condujeron al laboratorio, donde se mantuvieron en una incubadora a 23°C, para permitir la oviposición y luego la eclosión larvaria, calculando de esta manera la duración del período adulto-Larva (PAL), según lo han descrito diversos autores (11,18)

Análisis estadístico. Se realizó un análisis de datos descriptivo, basado en la preparación de curvas de fluctuación en el tiempo para los recuentos de garrapatas realizados sobre los animales y las larvas encontradas en las praderas. Los recuentos individuales de garrapatas fueron transformados a escala logarítmica para determinar los promedios geométricos (12,17).

RESULTADOS

La investigación se desarrolló por 18 semanas en el primer semestre del año, evaluando de forma consecutiva niveles de infestación de los animales y grado de contaminación de las praderas con larvas de garrapata. La densidad parasitaria observada a través del tiempo en los tres grupos se presenta en la figura 4. El día -7 del experimento, cuando se asignaron los animales a los grupos, los niveles de infestación eran moderados (2-3 garrapatas por animal) pero similares en los tres grupos.

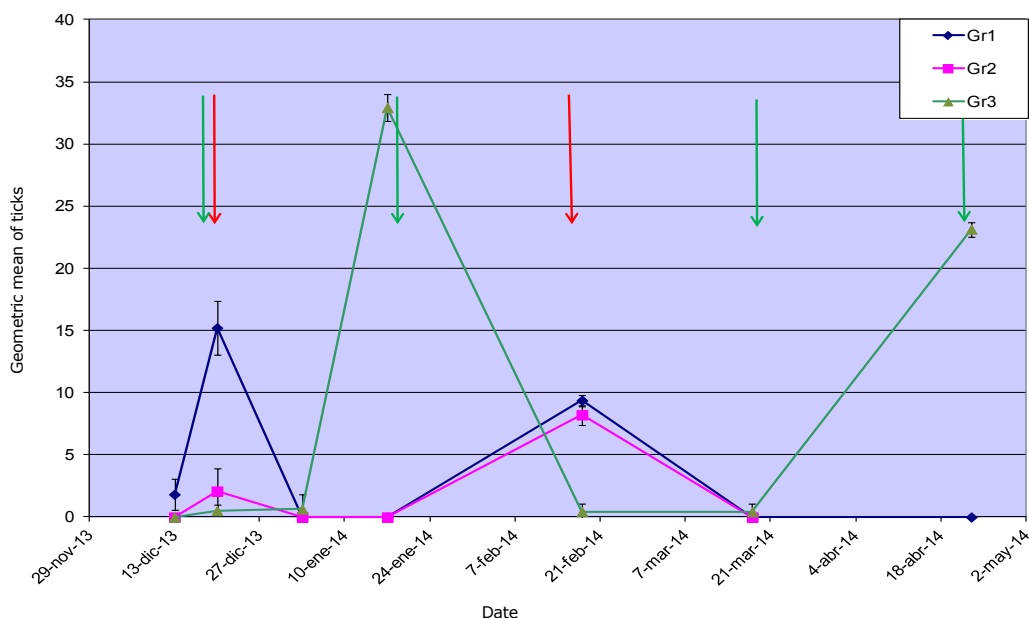


Figure 4. Geometric average of standard ticks (*Rhipicephalus microplus*) found in five animals from each experimental group. Vertical arrows indicate product application dates. Groups 1 and 2 received a Fluazuron application (red) and group 1 received a second application on February 18. Group 3 (green arrow) received application of Chlorpyrifos on indicated dates.

On the day of application of the first treatment the tick counts in group 1 were significantly higher; After application of the first treatment in all three groups, the levels of tick infestation in the animals decreased drastically; however, the levels of infestation in group 3 (treated with chlorpyrifos) were found to be high at four weeks after beginning the study. This can be explained by the relatively high levels of larval contamination in the paddocks.

The results of the larval tracking test are presented in Figure 5, where a log with the total larvae recovered in the twelve transects is shown for each paddock on each evaluation date. Paddocks 1A and 1B presented higher levels of contamination with larvae, particularly in the first weeks of follow up. Figure 6 shows two situations observed during the development of the traces; the first, when low numbers of ticks are caught and the second, when tick larvae catches are plentiful. Careful adult tick counts in five animals from each group adequately showed the levels of infestation with adult ticks. However, the recommended counting method for this type of evaluation (12) should be considered only for adult ticks larger than 4.5 mm, corresponding to larvae that adhered to the animal three weeks prior. At times, the infestation levels of immature animals (larvae, nymphs, young adults) were marked, but this was not shown in adult tick counts.

Figure 7. illustrates this condition. This corresponds to the populations of larvae that adhered to the animals about two weeks prior. Under this type of circumstance generally the cattle raiser treats his animals. An additional indicator of the degree of infestation of the

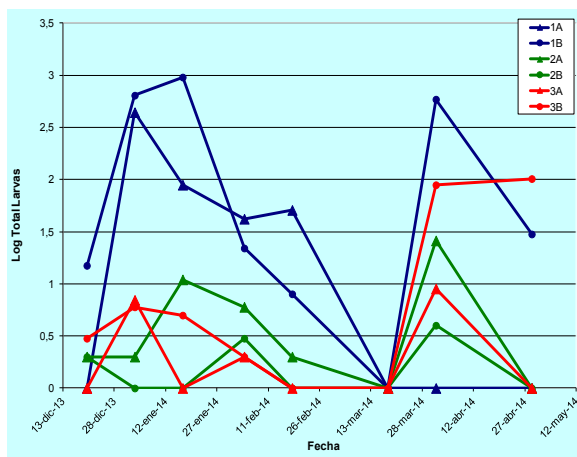


Figure 5. Contamination levels of prairie grass with tick larvae in the paddocks used by each experimental group. The nomenclature of the pastures is explained in figure 2.

El día de la aplicación del primer tratamiento los recuentos de garrapata en el grupo 1 fueron significativamente superiores; luego de la aplicación del primer tratamiento en los tres grupos, los niveles de infestación por garrapatas en los animales disminuyeron drásticamente, sin embargo, los niveles de infestación en el grupo 3 (tratado con clorpirifos) se encontraron altos a las cuatro semanas de iniciado el estudio. Esto se puede explicar por los relativamente altos niveles de contaminación con larvas que existían en los potreros.

Los resultados de la prueba de rastreo larvario se presentan en la figura 5, donde se expresa el logaritmo del total de las larvas recuperadas en los doce transectos en cada potrero en cada fecha de evaluación. Los potreros 1A y 1B fueron los que presentaron mayores niveles de contaminación con larvas, particularmente en las primeras semanas de seguimiento. La figura 6 presenta dos situaciones observadas durante el desarrollo de los rastreos; en ocasiones cuando se capturan bajos números de garrapatas y otra cuando las capturas de larvas garrapatas son abundantes. Los recuentos minuciosos de garrapatas adultas en cinco animales de cada grupo reflejaron de forma adecuada los niveles de infestación con garrapatas adultas; sin embargo, se debe considerar que el método de recuento recomendado para este tipo de evaluaciones (12) sólo considera las garrapatas adultas con un tamaño superior a 4,5 mm, que corresponden a las larvas que se adhirieron al animal tres semanas atrás. En ocasiones los niveles de infestación de los animales con fases inmaduras (larvas, ninfas, adultos jóvenes) fueron marcados, pero esto no se reflejó en los recuentos de garrapatas adultas.

La figura 7 ilustra esta condición; esto corresponde a las poblaciones de larvas que se adhirieron a los animales cerca de dos semanas atrás; bajo este tipo de circunstancias generalmente el ganadero procede al tratamiento de sus animales. Se requiere entonces de un indicador adicional del grado de infestación de los animales. Si no reciben tratamiento éstas se convertirán en garrapatas adultas una semana más tarde. La tabla 1 presenta una relación de las fechas de recuento en las que se detectaron infestaciones por ninfas en los animales sometidos a seguimiento.

DISCUSIÓN

A partir de los resultados alcanzados se destaca, que las dinámicas de la población de larvas en los potreros son afectadas por componentes ecológicos del clima imperante en la región y del



Figure 6. Evidence of various levels of tick contamination in pastures. On the left, a single tick larva is observed among several adhered seeds. On the right, a group of more than 100 larvae.



Figure 7. Nymphs and young tick adults (size <4.5 mm) in the jowl of a bovine of the group treated with Chlorpyrifos. This parasite size is not considered in the counts.

animals is then required. If left untreated, they will become adult ticks a week later. Table 1 shows the counting dates in which infestations by nymphs were detected in the animals monitored.

DISCUSSION

It is noteworthy, from the results observed, that the dynamics of the larval population in the paddocks is affected by ecological components of the prevailing climate in the region and the microclimate of each of the prairies (19), and that its explanation not only depends on the degree of contamination from the animals that grazed there a few weeks earlier.

microclima de cada una de las praderas (19), y que su explicación no sólo depende del grado de contaminación aportado por los animales que pastorearon en ese lugar unas semanas antes.

El tratamiento con fluazurón brindó protección para los animales por no menos de siete semanas, a pesar de los altos niveles de contaminación con larvas de los potreros, evidenciados en las evaluaciones de diciembre y enero, principalmente los potreros 1A y 1B (Figura 5).

Por aspectos logísticos de desarrollo del trabajo en campo, los recuentos de garrapatas sobre los animales sólo se realizaban en fechas

Table 1. Number of animals in each group (out of a total of five) in which moderate to high infestations were detected with nymphs of *Rhipicephalus microplus* during each of the evaluations in pen.

Count date	Gr1	Gr2	Gr3
13-Dec-13	4	0	0
20-Dec-13	0	0	0
3-Jan-14	0	0	5
17-Jan-14	2	0	5
18-Feb-14	5	2	0
18-Mar-14	0	0	3
23-Apr-14	0		5

Fluazuron treatment provided protection for the animals for at least seven weeks, despite the high levels of contamination with pasture larvae, evidenced in the evaluations during December and January, mainly pastures 1A and 1B (Figure 5).

Because of logistics aspects of field work development, tick counts on animals were only carried out on pre-established dates. During the evaluations of weeks 2 and 4 post-treatment, no ticks were found in cattle in groups 1 and 2, while in group 3 the geometric average was 33 ticks per animal.

The following count was done one month later, on week 9 post-treatment, when a minimum number of ticks (geometric mean less than 10 teleoginas per animal) was found in animals of groups 1 and 2. At that time, the second application of Fluazuron in group 1 was held, and tick counts returned to zero again, both in group 1 and in group 2 until the end of the study. Group 2 was only followed until week 13 of the study. For group 1 and group 3, tick counts were performed until week 18.

Due to the use of the prairies prior to the beginning of the study, in the first weeks of follow-up, several levels of larval infestation were evidenced in the paddocks, implying that the tick challenge of the groups was possibly not homogeneous; Which would have required the artificial infestation of prairies, with a known number of engorged ticks, as has been done in other investigations or formal efficacy tests (11, 17). This was not applicable in this research carried out under commercial terms. At least for the first six weeks of the study, the levels of grassland infestation can only be explained by the degree of contamination they suffered in previous weeks and by the favorability of each paddock to accommodate non-parasitic stages of the tick (16,19).

preestablecidas; en las evaluaciones de las semanas 2 y 4 post tratamiento no se encontraron garrapatas en los bovinos de los grupos 1 y 2, mientras en el grupo 3 el promedio geométrico fue de 33 garrapatas por animal.

El siguiente recuento se realizó un mes más tarde, la semana 9 post tratamiento, cuando se halló un número mínimo de garrapatas (promedio geométrico inferior a 10 teleoginas por animal) en los animales de los grupos 1 y 2. En esa fecha se realizó la segunda aplicación de fluazurón en el grupo 1 y los recuentos de garrapata volvieron a retornar a cero, tanto en el grupo 1, como en el grupo 2 hasta el final del estudio para cada grupo. El grupo 2 sólo fue seguido hasta la semana 13 del estudio. Por su parte al grupo 1 y al grupo 3 se le realizaron recuentos de garrapata hasta la semana 18.

Debido al uso dado a las praderas previo al inicio del estudio, en las primeras semanas de seguimiento, se evidenciaron diversos niveles de infestación larvaria en los potreros, implicando a que el desafío por garrapatas de los grupos posiblemente no fuera homogéneo; lo que para asegurarlo hubiese implicado la infestación artificial de las praderas, con un número conocido de garrapatas ingurgitadas, tal como se ha desarrollado en otras investigaciones o pruebas formales de eficacia (11, 17), aspecto que no era aplicable en esta investigación realizada bajo condiciones comerciales. Por lo menos para las primeras seis semanas del estudio los niveles de infestación de las praderas sólo se pueden explicar por el grado de contaminación que sufrieron en semanas precedentes y por la favorabilidad de cada potrero para albergar los estadios no parasíticos de la garrapata (16, 19).

Para mejorar la comprensión sobre el efecto poblacional del tratamiento con fluazurón sobre las poblaciones de larvas en las praderas con relación a los tiempos de desarrollo de las fases no parasíticas bajo las condiciones de temperatura en la zona de estudio (promedio 20°C), se realizó una simulación en el laboratorio determinando el PAL de garrapatas ingurgitadas recolectadas en la finca del estudio y mantenidas en una incubadora a 23°C (Figura 8). A esta temperatura el PAL fue de 65 días situación que contrasta con lo encontrado en condiciones de la altillanura plana colombiana (18) donde el PAL fluctuó entre 27 y 32 días a una temperatura de incubación de 30°C.

Este resultado implica que, bajo las condiciones de Fusagasugá, las poblaciones de garrapatas adultas observadas sobre los animales (expresadas en el recuento de teleoginas de

To improve the understanding of the population effect of the Fluazuron treatment on larval populations in the prairies in relation to the development time of the non-parasitic phases under the temperature conditions in the study area (average 20°C) a laboratory simulation was done, determining the PAL of engorged ticks collected on the study farm, kept in an incubator at 23°C (Figure 8). At this temperature the PAL was 65 days, which contrasts what was found under the conditions of the Colombian flat altillanura (18) where the PAL fluctuated between 27 and 32 days at an incubation temperature of 30°C.

This finding indicates that, under the conditions of Fusagasuga, the adult tick populations observed on the animals (expressed by the count of teleogines larger than 4.5 mm) will only be reflected by an increase in the contamination of the prairies with larvae between 9 and 10 weeks later, if the ticks find adequate conditions for the development of their non-parasitic phases in the prairie. The difference in the periods of larval development according to soil temperature and its effect on the dynamics of tick larvae in the prairies is a fundamental component that must be considered in the design of integrated tick control schemes (20), particularly those based on grassland management (21).

un tamaño superior a 4.5 mm) sólo se verán reflejadas en incrementos de la contaminación de las praderas con larvas entre 9 y 10 semanas más tarde, si las garrapatas encuentran en la pradera condiciones adecuadas para el desarrollo de las fases no parasitarias. Estas diferencias en los períodos de desarrollo larvario acorde con la temperatura del suelo y su efecto sobre la dinámica de las larvas de garrapata en las praderas son un componente fundamental que debe tenerse en cuenta en el diseño de esquemas de control integrado de la garrapata (20), particularmente aquellos basados en el manejo de las praderas (21).

Retornando a los niveles de infestación con larvas en las praderas presentados en la figura 5, los niveles de infestación observados hasta mediados de febrero e inicios de marzo corresponden a poblaciones de garrapatas adultas que contaminaron los potreros antes del inicio de este estudio y por su parte, el incremento de las poblaciones larvarias a mediados de marzo posiblemente corresponde a la contaminación de las praderas que efectuaron los animales la semana previa al inicio del estudio, cuando los animales infestados se colocaron en sus respectivas praderas. Es notorio que en el potrero 1A donde se ubicaron los animales del grupo 1 tratado con Fluazurón no se observó el pico de finales de marzo.



Figure 8. Determination of the duration of oviposition and of the Adult-Larva period of teleogines of *Rhipicephalus microplus* kept at 23°C in the laboratory.

In relation to the levels of larvae infestation in the prairies shown in Figure 5, the levels of infestation observed until mid-February and early March correspond to populations of adult ticks that contaminated the paddocks prior to the beginning of this study and partially, the increase in larval populations in mid-March, possibly corresponds to the contamination of the prairies made by the animals the week prior to the beginning of the study, when the infested animals were placed in their respective prairies. It is noteworthy that in paddock 1A, where the animals of group 1 treated with Fluzuron were located, the late March peak was not observed.

On the other hand, the teleogine counts on the animals could, in turn, reflect the larval populations that existed in the prairies three weeks earlier (12,13), thus allowing an approach to the protective effect of the treatment. In the first week of January, abundant populations of larvae were found, particularly in paddocks 1A and 1B, indicating that two or three weeks later, high counts of teleogines were observed in the animals. This was only observed in group 3, indicating that the other two groups showed protection provided by the treatment (8).

In conclusion, the use of the product was shown to protect animals from tick infestation for a period of seven to eight weeks. To ensure complete sterilization of ticks in the paddocks, treatment would be required every six weeks. Given the temperature of the soil in temperate regions such as Fusagasuga, the Adult-Larva period of the ticks is between 50 and 65 days, an aspect proven in the laboratory. This implies that the effect of treatment with Fluzuron on grassland contamination will only be shown almost two months after treatment. The design of strategic schemes for tick control should consider the soil temperature component, to be able to program treatments properly and manage the animals in the paddocks.

Conflict of Interests.

The authors of this manuscript declare that there is no conflict of interest that jeopardizes the validity of the investigation.

Acknowledgements

To San Gabriel cattle ranch for allowing the development of this study in the company's facilities. To the field staff of the company, especially Mr. Genaro Vásquez and Mr. Pascual Alarcón. We recognize the priceless support provided by colleagues Sandra Pinzón Riveros and Jorge Riveros Roza for the mobilization of field activities.

Por otra parte, los recuentos de teleoginas sobre los animales podrían reflejar a su vez las poblaciones larvarias que existían en las praderas tres semanas antes (12,13), permitiendo de esta manera hacer un acercamiento al efecto protector del tratamiento. En la primera semana de enero se encontraron abundantes poblaciones de larvas, particularmente en los potreros 1A y 1B, eso indica que dos o tres semanas más tarde se han debido observar altos recuentos de teleoginas en los animales. Esto sólo se observó en el grupo 3, indicando que los otros dos grupos evidenciaron protección brindada por el fármaco (8).

En conclusión se demostró la bondad del uso del producto para proteger a los animales de la infestación por garrapatas por un periodo entre siete a ocho semanas. Para asegurar una completa esterilización de la garrapata de los potreros se requerirían de tratamientos cada seis semanas. Dada la temperatura del suelo que ocurre en pisos de clima medio como Fusagasugá, el período Adulto-Larva de las garrapatas se cumple entre 50 y 65 días, aspecto comprobado en el laboratorio. Eso implica que el efecto del tratamiento con fluzurón sobre la contaminación de las praderas sólo se reflejará casi dos meses después del tratamiento. El diseño de esquemas estratégicos para el control de la garrapata debe tener en cuenta el componente de la temperatura del suelo, para poder hacer una adecuada programación de tratamientos y manejo de los animales en los potreros.

Conflicto de intereses.

Los autores del presente escrito declaran que no hay conflicto de intereses que pongan en riesgo la validez de la investigación.

Agradecimientos

A la ganadería San Gabriel por permitir el desarrollo de este estudio en las instalaciones de la empresa. Al personal de campo de la empresa, en particular los señores Genaro Vásquez y Pascual Alarcón. Se reconoce el invaluable apoyo prestado por los colegas Sandra Pinzón Riveros y Jorge Riveros Roza para la movilización en el desarrollo de actividades de campo.

REFERENCES

1. Benavides E, Romero A. Consideraciones para el control integral de parásitos externos del ganado. Carta Fedegan 2001; 70:64-86.
2. Foil LD, Coleman P, Eisler M, Fragoso-Sanchez H, Garcia-Vazquez Z, Guerrero FD, et al. Factors that influence the prevalence of acaricide resistance and tick-borne diseases. Vet Parasitol 2004; 125(1-2):163-81.
3. George JE, Pound JM, Davey RB. Chemical control of ticks on cattle and the resistance of these parasites to acaricides. Parasitology 2004; 129(Suppl):S353-66.
4. Nari A, Eddi C, Martins JR, Benavides E. Resistencia a los antiparasitarios: Estado actual con énfasis en América Latina. Estudio FAO Producción y Sanidad Animal 157. Roma: FAO; 2003.
5. Benavides E, Romero A, Rodríguez JL. Situación actual de resistencia de la garrapata *Boophilus microplus* a acaricidas en Colombia. Recomendaciones de manejo integrado. Tercera Entrega. Carta Fedegan. 2000; 61:14-24.
6. Benavides E, Rodríguez JL, Romero A. Isolation and partial characterization of the Montecitos strain of *Boophilus microplus* (Canestrini, 1877) multiresistant to different acaricides. Ann N Y Acad Sci 2000; 916:668-71.
7. Taylor MA. Recent developments in ectoparasitocides. Vet J 2001; 161(3):253-68.
8. Bull MS, Swindale S, Overend D, Hess EA. Suppression of *Boophilus microplus* populations with fluazuron--an acarine growth regulator. Aust Vet J 1996; 74(6):468-70.
9. Graf JF. The role of insect growth regulators in arthropod control. Parasitol Today 1993; 9(12):471-4.
10. Graf JF, Gogolewski R, Leach-Bing N, Sabatini GA, Molento MB, Bordin EL, Arantes GJ. Tick control: an industry point of view. Parasitology. 2004; 129(Suppl):S427-42.
11. Holdsworth PA, Kemp D, Green P, Peter RJ, De Bruin C, Jonsson NN, et al. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) guidelines for evaluating the efficacy of acaricides against ticks (Ixodidae) on ruminants. Vet Parasitol 2006; 136(1):29-43.
12. Wharton RH, Utech KBW. The relation between engorgement and drooping of *Boophilus microplus* (Canestrini) (Ixodidae) to the assessment of the tick numbers on cattle. J Aust Entomol Soc 1970; 9:171-82.
13. de la Vega R, Moreno A, Díaz G. Método de muestreo de la garrapata del ganado vacuno (*Boophilus microplus*) en vacas lecheras. Rev de Sal Anim 1984; 6:397-406.
14. Roberts JA. Resistance of cattle to the tick *Boophilus microplus* (Canestrini). II. Stages of the life cycle of the parasite against which resistance is manifest. J Parasitol 1968; 54(4):667-73.
15. Zimmerman RH, Garris GI. Sampling efficiency of three dragging techniques for the collection of nonparasitic *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) larvae in Puerto Rico. J Econ Entomol 1985; 78(3):627-31.
16. Wilkinson PR. The use of sampling methods in studies of the distribution of larvae of *Boophilus microplus* on pastures. Aust J Zool 1961; 9(5):752-83.
17. Aycardi E, Benavides E, Garcia O, Mateus G, Henao F, Zuluaga FN. *Boophilus microplus* tick burdens on grazing cattle in Colombia. Trop Anim Health Prod 1984; 16(2):78-84.
18. Benavides E. Observaciones sobre la fase no parasítica del ciclo evolutivo de *Boophilus microplus* en la altillanura Plana Colombiana. Rev ICA 1983; 18:513-24.
19. Snowball GJ. Ecological observations on the cattle tick, *Boophilus microplus* (Canestrini). Crop Pasture Sci 1957; 8(4):394-413.
18. Nari A. Strategies for the control of one-host ticks and relationship with tick-borne diseases in South America. Vet Parasitol 1995; 57(1-3):153-65.
20. Hernández-A F, Teel PD, Corson MS, Grant WE. Simulation of rotational grazing to evaluate integrated pest management strategies for *Boophilus microplus* (Acari: ixodidae) in Venezuela. Vet Parasitol 2000; 92(2):139-49.