



Metabolic resistance to pesticides Resistencia metabólica a insecticidas

García-Rojas J. C.¹, Robles-Bermúdez A.², Cambero-Campos O. J.²,
Carvajal-Cazola C. R., Peña-Sandoval G. R.^{2,3*}

Universidad Autónoma de Nayarit, ¹Posgrado en Ciencias Biológico Agropecuarias,
²Unidad Académica de Agricultura, Carretera Tepic-Compostela km 9. C.P.: 63780, Xalisco, Nayarit, México.
³Centro Nayarita de Innovación y Transferencia de Tecnología A.C., Av. Emilio M. González S/N.
Ciudad del Conocimiento. Col. Ciudad Industrial, C.P.: 62173. Tepic, Nayarit, México.

ABSTRACT

Pesticides are chemicals frequently used in agricultural pest control. Its uncontrolled and unplanned use has caused the development of resistance in different insect species. This review describes the phenomenon of resistance and its classification, aiming to highlight the major groups of enzymes known until now that are involved in the detoxification of pesticides in insects. Due to the importance that some enzymes mean, this review focuses on studies of resistance as glutathione S-transferases, acetylcholinesterase and P-450 cytochromes. In conclusion, the development of new studies that would deep knowledge in the cellular mechanisms and the enzymatic interaction in most insect species is necessary, since most of the current works focuses on a limited group of species. The latter meaning to improve pest control strategies of agricultural importance, with minimal environmental damage.

KEY WORDS

Pesticide; resistance; glutathione S-transferases; acetylcholinesterase; P-450 cytochromes.

Article Info/Información del artículo

Received/Recibido: August 6th 2016.

Accepted/Aceptado: November 29th 2016.

*Corresponding Author:

Peña-Sandoval, Gabriela Rosario. Centro de Innovación y Transferencia de Tecnología A.C., Av. Emilio M. González S/N. Ciudad del Conocimiento. Col. Ciudad Industrial, C.P.: 62173. Tepic, Nayarit, México. Phone:+52 (311)263 4082 E-mail: rgabyps@hotmail.com

RESUMEN

Los plaguicidas son sustancias químicas frecuentemente utilizadas en el control de plagas agrícolas. Su uso descontrolado y sin planeación ha provocado el desarrollo de resistencia en distintas especies de insectos. La presente revisión se orienta hacia el fenómeno de resistencia y su clasificación, con el objetivo de destacar los principales grupos de enzimas involucradas en la detoxificación de plaguicidas en insectos. Debido a la importancia que presentan algunas enzimas, la revisión se enfoca en estudios de resistencia mediados por enzimas glutatión S-transferasas, sin dejar de mencionar a las acetilcolinesterasas y citocromos P-450. Se concluye que es necesario realizar estudios que profundicen el conocimiento en los mecanismos celulares y las interacciones enzimáticas en mayor número de especies de insectos, ya que la mayoría de los trabajos actuales se enfocan en un grupo limitado de especies. Lo anterior con la intención de mejorar las estrategias de control de plagas de importancia agrícola, con el mínimo daño ambiental.

PALABRAS CLAVE

Plaguicida; resistencia; glutatión S-transferasas; acetilcolinesterasas; citocromos P-450.

Introducción

Desde hace cientos de años la agricultura se consolidó como la base del desarrollo económico y social,

Introduction

For hundreds of years agriculture has been consolidated as the base of economic and social development, its importance also consolidated as support of human feeding and farm animals (FAO, 2009). Due to the accelerated increase of the world's population, approximately from five million people in 1990 to seven million by 2015 (World Bank, 2015), it has been necessary to increase food production, which has forced a higher and more intense agricultural productivity. Even though the current agricultural system disproportionately applies capital and technology for being competitive and highly productive, it also carries a series of economic, social and environmental problems (Conway and Pretty, 2009). Since the origin of these species, some species of insects act as a plague problem. Worldwide, the diminishment of the yield due to this problem is about 20 - 35 % in most cultures (Nava *et al.*, 2012).

Amidst the current needs of agricultural production, with emphasis in the practice of the monoculture and the intensive culture, the use of agrochemicals can be found, such as pesticides, for example. These are composed of substances that are spread in the environment and defined as any substance or mix of substances, used intensively with the aim to prevent, destroy, control or repel any plague. Plague is defined as any organism that interferes with the convenience and well-being of the human being or any other species of interest (Ferrer, 2003; Badii and Landeros, 2007; FAO, 2012; Del Puerto *et al.*, 2014; IRAC, 2015).

Pesticides are applied extensively and irrationally into the environment in order to assure the increase of the production in function of the potential of the cultured species (Orta, 2002; Ferrer, 2003; Del Puerto *et al.*, 2014). Sale of pesticides has decreased since the last decade of the past century, by the gradual acceptance of the Integrated Pest Management (IPM) as plague control, the increase in the use of biopesticides in conventional agriculture, and the introduction of cultures genetically modified. Nevertheless, the volume of pesticides formulated in the world by the year 2005 reached almost 6×10^6 ton, and by 2006 around 95 thousand tons were consumed in Mexico (Carvalho, 2006; Hernández and Hansen *et al.*, 2011; March, 2014).

Within the social and environmental disadvantages in the use of pesticides highlight: 1) The damage to health, es-

su importancia como soporte de la alimentación humana principalmente, así como de sus animales de crianza (FAO, 2009). Debido al incremento acelerado de la población mundial, aproximadamente de cinco mil millones de personas en el año 1990 a siete mil millones para el 2015 (Banco Mundial, 2015), ha sido necesario aumentar la producción de alimentos, lo que a su vez ha obligado a una mayor e intensa productividad agrícola. A pesar de que el sistema agrícola actual aplica de forma desmesurada capital y tecnología para ser competitivo y altamente productivo, acarrea también una serie de problemas de tipo económico, social y ambiental (Conway y Pretty, 2009). Desde el origen de estas especies de insectos, algunas especies de insectos figuran como problema de plaga. Actualmente a nivel mundial, la disminución del rendimiento debido a esta problemática es de aproximadamente 20-35 % en la mayoría de los cultivos (Nava *et al.*, 2012).

Entre las necesidades de la producción agrícola actual, con énfasis en la práctica del monocultivo y del cultivo intensivo, se encuentra el uso de agroquímicos, por ejemplo, los plaguicidas. Son compuestos que se aplican en el ambiente y se definen como cualquier sustancia o mezcla de ellas, utilizadas de manera intensiva con la finalidad de prevenir, destruir, controlar o repeler cualquier plaga. Se define como plaga, a cualquier organismo que interfiera con la conveniencia y bienestar del ser humano, o cualquier otra especie de su interés (Ferrer, 2003; Badii y Landeros, 2007; FAO, 2012; Del Puerto *et al.*, 2014; IRAC, 2015).

Los plaguicidas son aplicados en el ambiente de manera prolongada e irracional, para asegurar el incremento de la producción en función al potencial de la especie cultivada (Orta, 2002; Ferrer, 2003; Del Puerto *et al.*, 2014). La venta de insecticidas ha disminuido desde la última década del siglo pasado, por la aceptación paulatina del Manejo Integrado de Plagas (IPM por sus siglas en inglés) como estrategia de control; el aumento en el uso de bioplaguicidas en la agricultura convencional, y la introducción de cultivos genéticamente modificados. Sin embargo, el volumen de plaguicidas formulados en el mundo para el año 2005 alcanzó casi 6×10^6 ton, y en México para el 2006 se consumieron alrededor de 95 mil toneladas (Carvalho, 2006; Hernández y Hansen, 2011; March, 2014).

Dentro de las desventajas sociales y ambientales del uso de plaguicidas destacan: 1) El daño a la salud, sobre todo de las personas que están directamente expuestas al contacto prolongado (Varona *et al.*, 2009; Gómez-Pérez *et al.*,

pecially all people who are directly exposed to extended contact (Varona *et al.*, 2009; Gómez *et al.*, 2011; Aiassa *et al.*, 2012); 2) The damage to ecosystems, due to the impact on wildlife, amongst them, the pollinators, natural controls such as parasitoids, and predators, apart from competitors by the ecological niche; and 3) The incidence on the acquisition of genetic resistance, since these molecules represent a strong selection pressure, for both the organisms that are aimed to and for those sharing similar metabolic mechanisms (González and Bernal, 2000; Díaz *et al.*, 2004; Gutiérrez *et al.*, 2013; Del Puerto *et al.*, 2014).

Pesticide Classification

There is a great variety of active ingredients, which can be classified in accordance to: 1) The organism it controls (insecticide, acaricide, fungicide, bactericide, herbicide, rodenticide and molluscicide); 2) Chemical family (organophosphates, organochlorines, carbamates, pyrethroids, among others); 3) Toxicity grade (category: 1, 2, 3, 4 and 5); 4) Persistence in the environment (light, few, moderated, highly persistent and permanent); 5) Action mode; 6) Chemical composition (organic, inorganic, synthetic organic and biological); 7) Concentration (technical or formulated); and 8) Origin (chemical, biochemical, microbial, botanic and miscellaneous) (Table 1) (Ferrer, 2003; Badii and Landeros, 2007; Del Puerto *et al.*, 2014; IRAC, 2015; COFEPRIS, 2016).

Resistance to pesticides

Different authors define it as: "Genetic characteristic that allows an organism to survive the exposure of certain concentration of a pesticide that would normally result lethal to most of the susceptible organisms, which implies failure in population control" (Bisset, 2002; Fonseca and Quiñones, 2005; Rodríguez, 2005; Badii and Garza, 2007; Lagunes *et al.*, 2009; FAO, 2012; IRAC, 2015). It is known that organisms populations develop resistance to almost all chemical families due to evolutionary forces, such as selection pressure, which, in this case, is provoked by mankind (artificial selection) (Feyereisen, 1995; Ffrench *et al.*, 2004; Rodríguez, 2005; Lagunes-Tejeda *et al.*, 2009; Hsu *et al.*, 2011; Trumper, 2014).

As generations pass, the selection pressure that insecticides exert provoke microevolutionary changes that allow survival of those individuals that possess one or several genotype and phenotype characteristics of resistance,

2011; Aiassa *et al.*, 2012); 2) El daño a los ecosistemas, debido al impacto sobre la vida silvestre, entre ellos a los polinizadores, controladores naturales como parasitoides, y depredadores, además de competidores por el nicho ecológico; y 3) La incidencia sobre la adquisición de resistencia genética, ya que estas moléculas representan una fuerte presión de selección, tanto para los organismos a los que van dirigidos como para aquellos que comparten mecanismos metabólicos similares (González y Bernal, 2000; Díaz *et al.*, 2004; Gutiérrez-Ramírez *et al.*, 2013; Del Puerto *et al.*, 2014).

Clasificación de plaguicidas

Existe una gran diversidad de ingredientes activos, los cuales se pueden clasificar de acuerdo a: 1) El organismo que controla (insecticida, acaricida, fungicida, bactericida, herbicida, rodenticida y molusquicida); 2) Familia química (organofosforados, organoclorados, carbamatos, piretroides, entre otros); 3) Grado de toxicidad (categoría: 1, 2, 3, 4 y 5); 4) Persistencia en el ambiente (ligera, poco, moderada, altamente persistente y permanente); 5) Modo de acción; 6) Composición química (orgánico, inorgánico, orgánico sintético y biológico); 7) Concentración (técnico o formulado); y 8) Origen (químico, bioquímico, microbiano, botánico y misceláneo) (Tabla 1) (Ferrer, 2003; Badii y Landeros, 2007; Del Puerto *et al.*, 2014; IRAC, 2015; COFEPRIS, 2016).

Resistencia a plaguicidas

Diferentes autores la definen como: "Característica genética que permite a un organismo sobrevivir a la exposición de cierta concentración de un plaguicida que normalmente resultaría letal para la mayoría de los organismos susceptibles, lo que implica el fracaso de control en la población" (Bisset, 2002; Fonseca y Quiñones, 2005; Rodríguez, 2005; Badii y Garza, 2007; Lagunes-Tejeda *et al.*, 2009; FAO, 2012; IRAC, 2015). Se conoce que las poblaciones de organismos desarrollan resistencia a casi todas las familias químicas, debido a fuerzas evolutivas, como, por ejemplo, la presión de selección, que en este caso es provocada por el hombre (selección artificial) (Feyereisen, 1995; Ffrench *et al.*, 2004; Rodríguez, 2005; Lagunes-Tejeda *et al.*, 2009; Hsu *et al.*, 2011; Trumper, 2014).

Al paso de las generaciones, la presión de selección que ejercen los insecticidas, provocan cambios microevolutivos que permiten la sobrevivencia de aquellos individuos que poseen una o varias características genotípicas y fenotípicas de resistencia, permitiéndoles adaptarse, ya que se

Table 1.
Classification of the main insecticides used in agriculture.

Tabla 1.
Clasificación de los principales insecticidas utilizados en la agricultura.

Active ingredient	Chemical family	*Degree of toxicity	+Persistence in the environment	Mode of Action According to IRAC
Malathion	Organophosphate	Cat. 5	A	AChE inhibitor
Methomyl	Carbamate	Cat. 2	D	AChE inhibitor
Fipronil	Phenylpyrazole	Cat. 3	C	Receptor antagonists GABA in chlorine channel
Cypermethrin	Pyrethroid	Cat. 4	A	Sodium channel modulator
Imidacloprid	Neonicotinoid	Cat. 4	C	Nicotinic acetylcholine receptor competitive modulator
Spinosad	Spinosyn	Cat. 5	B	Nicotinic acetylcholine receptor allosteric modulator
Abamectin (Avermectin)	Pentacyclin	Cat. 2	B	Chlorine channel activator
Fenoxycarb	Carbamate	Cat. 5	A	Juvenile hormone mimic
Boric acid	Borate	Cat. 5	A	Miscellaneous non-specific Inhibitor
Pymetrozine	Pyridine	N/D	A	Modulator of chordotonal organs
Bacillus thuringiensis	Biological	Cat. 5	B	Microbial disruptor of the digestive membranes of insects
Sulfuramid	Sulfonamide	Cat. 5	D	Uncoupler of oxidative phosphorylation by disruption of the proton gradient
Thiocyclam	Oxalate	Cat. 4	B	Nicotinic acetylcholine receptor channel blocker
Diflubenzuron	Benzoylurea	Cat. 5	A	Inhibitor of chitin biosynthesis type 0 (Lepidoptera)
Buprofezin	Tiadiazine	Cat. 5	A	Inhibitor of chitin biosynthesis type 1
Cyromazine	Triazine	Cat. 5	B	Moulting disruptor (Dipteran)
Methoxyfenozide	Diacylhydrazine	Cat. 5	N/D	Ecdysone receptor agonist
Amitraz	Triazapentadiene	Cat. 4	C	Octopamine receptor agonist
Acequinocyl	Quinoline	Cat. 5	A	Mitochondrial complex III electron transport inhibitor
Fenazaquin	Quinazoline	Cat. 3	N/D	Mitochondrial complex I electron transport inhibitor

Indoxacarb	Oxadiazine	Cat. 3	N/D	Voltage-dependent sodium channel blocker
Spirodiclofen	Tetronic acid derivative	Cat. 5	N/D	Inhibitor of acetyl CoA carboxylase
Aluminium phosphide	Fosfine	Cat. 1	A	Mitochondrial complex IV electron transport inhibitor

*Cat: Category 1 = 5; Category 2 = 50; Category 3 = 300; Category 4 = 2000; Category 5 = 5000 mg/kg Active Ingredient (expressed as acute oral LD50 in rat); +Light = A (less than 4 weeks); Little = B (4 to 26 weeks); Moderate = C (27 to 52 weeks); Highly Persistent = D (more than 1 year but less than 20); Permanent = E (more than 20 years); N/A: Information not available.

*Cat: Categoría 1 = 5; Categoría 2 = 50; Categoría 3 = 300; Categoría 4 = 2000; Categoría 5 = 5000 mg/Kg de Ingrediente Activo (expresadas en DL50 oral aguda en rata); +Ligera = A (menos de 4 semanas); Poco = B (de 4 a 26 semanas); Moderada = C (de 27 a 52 semanas); Altamente Persistente = D (más de 1 año pero menos de 20); Permanente = E (más de 20 años); N/D: información no disponible.

allowing to adapt, since the insecticide is disabled by exercising satisfactory control (Rodríguez, 2005; Trumper, 2014). Resistance represents a micro-evolutionary and pre-adaptive phenomenon that limits agricultural production, phenomenon that can be approached at different levels: genes, chromosomes, cells, individuals and populations; for studies from the agronomy point of view, it is extremely important to consider resistance at a population level (Rodríguez, 2005; Liu, 2012).

inhabilita al insecticida a ejercer un control satisfactorio (Rodríguez, 2005; Trumper, 2014). La resistencia representa un fenómeno microevolutivo y preadaptativo que limita la producción agrícola; fenómeno que se puede abordar a distintos niveles: genes, cromosomas, células, individuos y poblaciones; para estudios desde el punto de vista de la agronomía, es de suma importancia considerar la resistencia a nivel poblacional (Rodríguez, 2005; Liu, 2012).

Classification of resistance mechanisms

This can be made in different categories: resistance to cuticle penetration, by behavior, blank insensitive site

Clasificación de los mecanismos de resistencia

Se puede clasificar en distintas categorías: resistencia a la penetración cuticular, por comportamiento, sitio blanco insensible y metabólica o bioquímica (Tabla 2). En

Table 2.
Classification of the pesticide resistance.

Tabla 2.
Clasificación de la resistencia a plaguicidas.

Cuticular penetration	By behavior	Insensitive target site	Metabolic
<p>The composition of the exoskeleton becomes modified by inhibiting the penetration of the insecticide</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Cuticle with high protein and lipid content ➤ Exoskeleton modification 	<p>Insect does not come in contact with the insecticide due to an escape behavior</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Rest preference in untreated areas ➤ Detection of the insecticide : irritant or repellent action 	<p>Chemical site of action for insecticide is modified by reducing the sensitivity to the active form of the insecticide</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ AChE insensitive ➤ Modification of <i>Kdr</i> kinetics opening ➤ GABA receptor insensitive 	<p>Metabolic pathway of insect becomes modified.</p> <p>Increase in detoxification:</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Point mutation ➤ Gene duplication ➤ Mutation in target molecule

and metabolic or biochemical (Table 2). In most cases, detox enzymes are the main causal factor of resistance to diverse chemical molecules; when the toxic penetrates the organism, it is subject to the enzymatic action, generating a series of metabolic reactions that result in less toxic subproducts that are excreted easily (Bisset, 2002; Badii and Garza, 2007; Liu, 2012). These enzymes modify their enzymatic action due to the pressure of pesticides selection, since every organism needs to adapt the environment, which allows survival of those individuals that possess one or several genotype and phenotypic characteristics of resistance.

Metabolic resistance

Physiological or biochemical changes are present in the organisms, which impede the toxic to reach its action place (Flores *et al.*, 2001). It has been considered that the most important detox enzymes are: glutathione S-transferases (GSTs), monooxygenases (cytochromes P-450), mix function oxidases (MFO) and esterase (Bisset, 2002; Ranson *et al.*, 2002; Díaz *et al.*, 2004; Badii and Garza, 2007; Hsu *et al.*, 2011; Liu, 2012; Ying *et al.*, 2013; French *et al.*, 2013).

Diverse works correlate the resistance to pesticides with the increase of enzymatic activity, attributing it to punctual mutations, genic duplications and mutations in the target molecule (Mutero *et al.*, 1994; Villatte *et al.*, 2000; Vontas *et al.*, 2001; Vontas *et al.*, 2002; Ortelli *et al.*, 2003; Menozzi *et al.*, 2004; Revuelta *et al.*, 2009; Ying *et al.*, 2013; Chang *et al.*, 2014; Zhao *et al.*, 2014; Xi *et al.*, 2015).

Xenobiotic metabolism phases

The biotransformation of a xenobiotic consists in transforming a non-polar toxic in a hydro-soluble compound by using the same biochemical machinery that endogenous compounds of similar chemical structure are metabolized. The study of reactions that constitute the biotransformation is of great importance since it allows us to understand the defense mechanisms of tissues towards hexogen compounds that manage to enter the organism (Peña *et al.*, 2001).

Enzymatic detoxification of xenobiotics is divided in two phases. In the first phase, chemical properties of a toxic compound are transformed through reactions such as oxidation, reduction or hydrolysis, which converts them in a more water-soluble product hence less toxic; this phase can be carried by oxidative enzymes such as cy-

la mayoría de los casos, las enzimas detoxificadoras son el principal factor causal de resistencia a diversas moléculas químicas; al penetrar el tóxico al organismo, es sujeto a la acción enzimática, generándose una serie de reacciones metabólicas que dan como resultado subproductos menos tóxicos que son excretados con mayor facilidad (Bisset, 2002; Badii y Garza, 2007; Liu, 2012). Estas enzimas modifican su acción enzimática, debido a la presión de selección con insecticidas, ya que, todo organismo debe adaptarse al medio, lo que permite la supervivencia de aquellos individuos que posean una o varias características genotípicas y fenotípicas de resistencia.

Resistencia metabólica

Se presentan cambios fisiológicos o bioquímicos en los organismos, que impiden que el tóxico alcance su sitio de acción (Flores *et al.*, 2001). Se ha considerado que las enzimas detoxificadoras más importantes son: glutatión S-transferasas (GSTs), monooxigenasas (citocromos P-450), oxidasas de función mixta (FOM) y esterases (Bisset, 2002; Ranson *et al.*, 2002; Díaz *et al.*, 2004; Badii y Garza, 2007; Hsu *et al.*, 2011; Liu, 2012; Ying *et al.*, 2013; French *et al.*, 2013).

Diversos trabajos correlacionan la resistencia a plaguicidas con el aumento de actividad enzimática, atribuyéndose a mutaciones puntuales, duplicaciones génicas y mutaciones en la molécula diana (Mutero *et al.*, 1994; Villatte *et al.*, 2000; Vontas *et al.*, 2001; Vontas *et al.*, 2002; Ortelli *et al.*, 2003; Menozzi *et al.*, 2004; Revuelta *et al.*, 2009; Ying *et al.*, 2013; Chang *et al.*, 2014; Zhao *et al.*, 2014; Xi *et al.*, 2015).

Fases del metabolismo de xenobióticos

La biotransformación de un xenobiótico consiste en transformar un tóxico no polar en un compuesto hidrosoluble, utilizando la misma maquinaria bioquímica con la que se metabolizan los compuestos endógenos de estructura química similar. El estudio de las reacciones que constituyen la biotransformación es de gran importancia, ya que nos permite entender los mecanismos de defensa de los tejidos hacia los compuestos exógenos que logran ingresar al organismo (Peña *et al.*, 2001).

La detoxificación enzimática de xenobióticos se divide en dos fases. En la primera fase, las propiedades químicas de un compuesto tóxico son transformadas a través de reacciones como oxidación, reducción o hidrólisis, lo que los convierte en un producto más soluble en agua y por ende menos tóxico; esta fase puede ser llevada a cabo por enzimas oxidativas como los citocromos P-450, ya que

tochromes P-450, since they catalyze reactions such as hydroxylation, dehydration, dimerization, deamination and reduction. The second phase implicates the conjugation of the product with glutathione, a sugar or amino acid, which increases its solubility and reduces toxicity; this phase is commonly developed by the GSTs, which catalyze the conjugation with glutathione (Figure 1). In some cases, a third phase that implicates a secondary conjugation is present, since the conjugate of glutathione-xenobiotic could be too hydrophilic to penetrate the cell membrane, this could be bombed by an ATPase transmembrane (enzyme phase III), leading to the excretion of the xenobiotic (Peña *et al.*, 2001; Sheehan *et al.*, 2001; Badii and Garza, 2007).

Glutathione S-transferases

These are a super family of isoenzymes implicated in the metabolism, detoxification and excretion of xenobiotics; in addition, they are involved in the protection against oxidative stress, intracellular transport and hormones biosynthesis (Sheehan *et al.*, 2001; Fonseca and Quiñones, 2005; Hu *et al.*, 2015). The GSTs are characterized by their enzymatic activity phase II, they catalyze the conjugation of the tripeptide glutathione in the electrophilic centers of the xenobiotics in order to transform them in less toxic soluble compounds, so they can be excreted easily (Enayati *et al.*, 2005; Yu *et al.*, 2008; Umasuthan *et al.*, 2012).

catalizan reacciones como hidroxilación, deshidratación, dimerización, desaminación, y reducción. La segunda fase implica la conjugación del producto con glutatión, un azúcar o un aminoácido, lo que incrementa aún más la solubilidad y reduce la toxicidad; esta fase es comúnmente desarrollada por las GSTs, que catalizan la conjugación con glutatión (Figura 1). En algunos casos se presenta una tercera fase que implica una conjugación secundaria, ya que el conjugado de glutatión-xenobiótico podría ser aún demasiado hidrófilo para penetrar la membrana celular, este podría ser bombeado por una ATPasa transmembrana (enzima fase III), dando lugar a la excreción del xenobiótico (Peña *et al.*, 2001; Sheehan *et al.*, 2001; Badii y Garza, 2007).

Glutathión S-transferasas

Estos son una superfamilia de isoenzimas implicadas en el metabolismo, detoxificación y excreción de xenobióticos; además están involucradas en la protección contra el estrés oxidativo, el transporte intracelular y la biosíntesis de hormonas (Sheehan *et al.*, 2001; Fonseca y Quiñones, 2005; Hu *et al.*, 2015). Las GSTs se caracterizan por su actividad enzimática fase II, catalizan la conjugación del tripéptido glutatión en los centros electrofílicos de los xenobióticos, con el fin de transformarlos en compuestos solubles menos tóxicos, para ser excretados con mayor facilidad (Enayati *et al.*, 2005; Yu *et al.*, 2008; Umasuthan *et al.*, 2012).

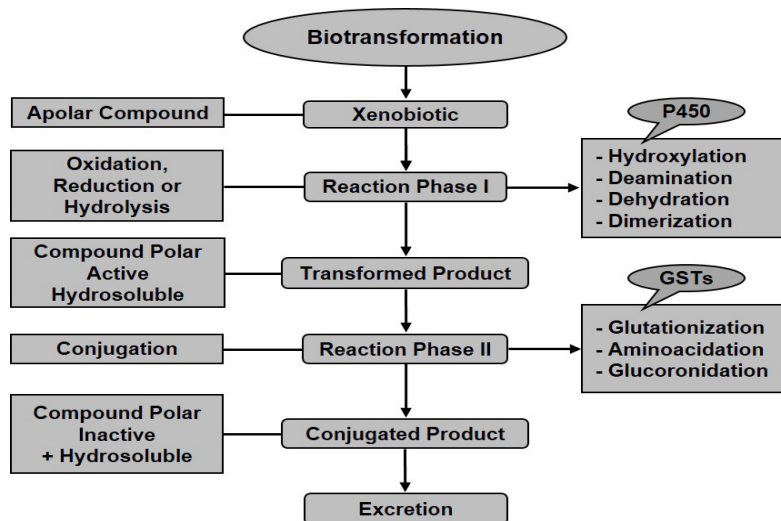


Figure 1. Biotransformation of xenobiotics.

Figura 1. Biotransformación de xenobióticos.

Based in the sequence N-terminal of amino acids, phylogenetic relation and substrate specificity of substrate (Umasuthan *et al.*, 2012; Liu *et al.*, 2015), the GSTs are embraced in three independent families: cytosolic, microsomal and mitochondrial Lumjuan *et al.*, 2007; Iriarte *et al.*, 2012; Umasuthan *et al.*, 2012), and there are 14 classes called: alpha, beta, delta, epsilon, zeta, theta, kappa, lambda, mu, pi, sigma, tau, phi and omega.

The GSTs are present in all life forms (Umasuthan *et al.*, 2012; Hu *et al.*, 2015). In insects, six types of cytosolic GSTs have been found: delta, epsilon, sigma, omega, zeta and theta (Lumjuan *et al.*, 2007; Hu *et al.*, 2014; Hu *et al.*, 2015), identified in *Musca domestica*, *Drosophila melanogaster*, *Anopheles gambiae*, *Anopheles dirus*, *Aedes aegypti*, *Apis mellifera*, *Nilaparvata lugens*, *Culicoides variipennis*, *Plutella xylostella*, *Lucilia cuprina*, *Bombyx mori*, *Manduca sexta*, *Blattella germanica*, *Choristoneura fumiferana*, *Tribolium castaneum*, *Bactrocera dorsalis*, *Spodoptera exigua* and *Spodoptera litura* (Sheehan *et al.*, 2001; Enayati *et al.*, 2005; Lumjuan *et al.*, 2007; Yu *et al.*, 2008; Deng *et al.*, 2009; Hu *et al.*, 2014; Hu *et al.*, 2015), from which delta and epsilon are specific for the insect class.

Biochemical tests performed in *Culex quinquefasciatus*, previously exposed to organophosphates, evidenced an increase in the GST activity in populations that present resistance to elevated concentrations (Díaz *et al.*, 2004). The main role of GST in resistance to organophosphates is the detoxification, which is made through a conjugation reaction of the molecule with GSH resulting the O- de-alkylation and O- de-arilation (Lumjuan *et al.*, 2007).

The GSTs in insects can be distributed in cells in diverse tissues such as the digestive tract, Malpighi tubes, corporal fat and epidermis, where their overexpression can result in resistance to different xenobiotics (Hu *et al.*, 2014). Delta and epsilon are implicated in the resistance to organochloride, organophosphates and pyrethroids. Despite that *Bombyx mori* presents the six classes of GST in its genotype, null or few expression of delta and epsilon in corporal fat has been reported, which could explain the susceptibility to certain pesticides, being corporal fat one of the main tissues involved in the energetic metabolism and detoxification in insects (Yu *et al.*, 2008).

Con base en la secuencia N-terminal de aminoácidos, relación filogenética y especificidad de sustrato (Umasuthan *et al.*, 2012; Liu *et al.*, 2015), las GSTs se engloban en tres familias independientes: citosólicas, microsomas y mitocondriales (Lumjuan *et al.*, 2007; Iriarte *et al.*, 2012; Umasuthan *et al.*, 2012), y se numeran 14 clases llamadas: alpha, beta, delta, epsilon, zeta, theta, kappa, lambda, mu, pi, sigma, tau, phi y omega.

Las GSTs están presentes en todas las formas de vida (Umasuthan *et al.*, 2012; Hu *et al.*, 2015). En insectos, se han encontrado seis tipos de GSTs citosólicas: delta, epsilon, sigma, omega, zeta y theta (Lumjuan *et al.*, 2007; Hu *et al.*, 2014; Hu *et al.*, 2015), identificadas en *Musca domestica*, *Drosophila melanogaster*, *Anopheles gambiae*, *Anopheles dirus*, *Aedes aegypti*, *Apis mellifera*, *Nilaparvata lugens*, *Culicoides variipennis*, *Plutella xylostella*, *Lucilia cuprina*, *Bombyx mori*, *Manduca sexta*, *Blattella germanica*, *Choristoneura fumiferana*, *Tribolium castaneum*, *Bactrocera dorsalis*, *Spodoptera exigua* y *Spodoptera litura* (Sheehan *et al.*, 2001; Enayati *et al.*, 2005; Lumjuan *et al.*, 2007; Yu *et al.*, 2008; Deng *et al.*, 2009; Hu *et al.*, 2014; Hu *et al.*, 2015), de las cuales delta y epsilon son específicas para la clase insecta.

Pruebas bioquímicas realizadas en *Culex quinquefasciatus*, previamente expuestos a organofosforados, evidenciaron aumento en la actividad de GST en poblaciones que presentan resistencia a elevadas concentraciones (Díaz *et al.*, 2004). El rol principal de GST en la resistencia a organofosforados, es la detoxificación, que se realiza mediante una reacción de conjugación de la molécula con GSH dando como resultado la O-desalquilación y O-desarilación (Lumjuan *et al.*, 2007).

Las GSTs en insectos pueden estar distribuidas en células de diversos tejidos como en el tracto digestivo, tubos de Malpighi, grasa corporal y la epidermis, donde su sobreexpresión puede resultar en resistencia a distintos xenobióticos (Hu *et al.*, 2014). Delta y epsilon están implicadas en la resistencia a organoclorados, organofosforados y piretroides. A pesar de que *Bombyx mori*, presenta en su genotipo las seis clases de GST, se ha reportado poca o nula expresión de delta y epsilon en grasa corporal, lo que podría explicar la susceptibilidad a ciertos plaguicidas, ya que la grasa corporal es uno de los principales tejidos involucrados en el metabolismo energético y detoxificación en insectos (Yu *et al.*, 2008).

En *Bactrocera dorsalis*, se han descubierto 17 genes que codifican para GST. Se detectaron diferencias en la

In *Bactrocera dorsalis*, 17 genes that codify for GST have been discovered. Differences in the expression of all genes have been detected in their complete biological cycle (egg, larva1, larva2, larva3, pupa and adult). The gene *BdGSTe1* over-expresses in egg, which suggests the regulation of the juvenile hormone and ecdysone in the embryonic development. Over-expression was reported for *BdGSTe2*, *BdGSTe3*, *BdGSTe4* and *BdGSTe6* (epsilon) in adults. The higher expression for *BdGSTd5*, *BdGSTe3* and *BdGSTe9*, was in the medium intestine, which carries out detoxification of secondary metabolites; *BdGSTd6*, *BdGSTe4*, *BdGSTe6* and *BdGSTz2*, were over-expressed in corporal fat, related in the detoxification of xenobiotics; same for *BdGSTd1*, *BdGSTe1*, *BdGSTe2*, *BdGSTe5*, *BdGSTe7* and *BdGSTu1* in the Malpighi tubes, main excrete organ in insects, implicated in the metabolism and excretion of pesticides (Hu *et al.*, 2014).

A study made in *S. exigua* (Hu *et al.*, 2015) suggests that the gene *SeGSTe* class epsilon, is implicated in the detoxification of xenobiotics and the protection against oxidative stress. The gene presents 90 % of identity with *SIGSTe2* reported in *S. litura* (Deng *et al.*, 2009). It was found that its expression is given in the medium intestine in the prepupal stage, and it is not expressed in the epidermis nor in corporal fat. Similar results have been reported for *Bombyx mori* (Yu *et al.*, 2008), and *Bactrocera dorsalis* (Hu *et al.*, 2014). *SeGSTe* purified from cells infected with baculovirus is able to protect supercoiling DNA from oxidative damage. In addition, it can catalyze the conjugation of 1-chloro-2,4-dinitrobenzene and 1,2-dichloro-4-nitrobenzene with GSH, and being inhibited by different types of pesticides. These findings set molecular basis for the comprehension of the mechanisms to insecticides in these species.

Acetylcholinesterases

Organophosphate and carbamate insecticides represent approximately the 50 % of pesticides used around the world. These act through the inhibition of enzyme acetylcholinesterase (AChE), what leads to the accumulation of ACh in the cholinergic synapsis, which leaves the receptors of ACh permanently open, provoking a lethal dysfunction in the nervous system of the organisms (Villatte and Bachmann, 2002; Fournier, 2005).

expresión de todos los genes, en su ciclo biológico completo (huevo, larva1, larva2, larva3, pupa y adulto). El gen *BdGSTe1* se sobreexpresa en huevo, lo que sugiere la regulación de la hormona juvenil y ecdisoma en el desarrollo embrionario. Se reportó sobreexpresión para *BdGSTe2*, *BdGSTe3*, *BdGSTe4* y *BdGSTe6* (epsilon) en adultos. La expresión más alta para *BdGSTd5*, *BdGSTe3* y *BdGSTe9*, fue en el intestino medio, el cual lleva a cabo detoxificación de metabolitos secundarios; *BdGSTd6*, *BdGSTe4*, *BdGSTe6* y *BdGSTz2*, se sobreexpresaron en grasa corporal, relacionada en la detoxificación de xenobióticos; al igual que *BdGSTd1*, *BdGSTe1*, *BdGSTe2*, *BdGSTe5*, *BdGSTe7* y *BdGSTu1* en los tubos de Malpighi, principal órgano excretor en insectos, implicado en el metabolismo y excreción de plaguicidas (Hu *et al.*, 2014).

Un estudio realizado en *S. exigua* (Hu *et al.*, 2015), sugiere que el gen *SeGSTe* de la clase epsilon, está implicado en la detoxificación de xenobióticos y la protección contra el estrés oxidativo. El gen presenta un 90 % de identidad con *SIGSTe2* reportado en *S. litura* (Deng *et al.*, 2009). Se encontró que su expresión se da en el intestino medio en la etapa prepupal, y no se expresa en la epidermis ni en grasa corporal. Resultados similares han sido reportados para *Bombyx mori* (Yu *et al.*, 2008), y *Bactrocera dorsalis* (Hu *et al.*, 2014). *SeGSTe* purificado a partir de células infectadas por baculovirus, es capaz de proteger al DNA superenrollado del daño oxidativo. Además, puede catalizar la conjugación de 1-cloro-2,4-dinitrobenzenu y 1,2-dicloro-4-nitrobenzenu con GSH, y ser inhibido por distintos tipos de plaguicidas. Estos hallazgos proporcionan bases moleculares para la comprensión de los mecanismos a insecticidas en estas especies.

Acetilcolinesterasas

Los insecticidas organofosforados y carbamatos, representan aproximadamente el 50 % de los plaguicidas utilizados alrededor del mundo. Estos actúan mediante la inhibición de la enzima acetilcolinesterasa (AChE), lo que conduce a la acumulación de ACh en la sinapsis colinérgica, que a su vez deja a los receptores de ACh permanentemente abiertos, mismos que provocan una disfunción letal en el sistema nervioso de los organismos (Villatte y Bachmann, 2002; Fournier, 2005).

En los insectos (ambos dípteros), *Drosophila melanogaster* (Adams *et al.*, 2000) y *Anopheles gambiae* (Holt *et al.*, 2002), se reveló que los genes *ace1* y *ace2*, juegan un papel fundamental en la resistencia a plaguicidas. Dichos genes están

In the insects (both dipters), *Drosophila melanogaster* (Adams *et al.*, 2000) and *Anopheles gambiae* (Holt *et al.*, 2002), that this genes called *ace1* and *ace2* revealed, that both play a fundamental role in the resistance to pesticides. Such genes are present in *A. gambiae* (Weill *et al.*, 2002; Fournier, 2005); nevertheless, in *D. melanogaster* the AChE is codified only by *ace2* (Fournier *et al.*, 1993; Weill *et al.*, 2002; Huchard *et al.*, 2006); studies in other insects that possess both genes suggest that *ace1* is the gene responsible of a higher activity of the AChE (Revuelta *et al.*, 2009; Revuelta *et al.*, 2011).

In some cases, resistance is due to quantifiable alterations in the AChE activity, which can be varied: 1) Punctual mutations in the sequence of the enzyme change their sensibility to inhibitors (organophosphates and carbamates); five substitutions of amino acids (*F115S*, *I1199T*, *I199V*, *F368Y* and *G303A*) are found in the sequence of individuals resistant in *D. melanogaster*, which suggests higher number of mutations are found in country populations; and 2) The overexpression of the AChE whether by overtranscription or by a genic duplication leads to resistance through an increase in the amount of AChE in the cholinergic synapsis (Villatte and Bachmann, 2002).

Alterations in the AChE in *Bactrocera oleae* (Vontas *et al.*, 2001; Vontas *et al.*, 2002; Hawkes *et al.*, 2005) and *Bactrocera dorsalis* have been shown, where all resistant lines studied present mutation in the gene *ace I214V*, *G488S* and *Q643R* (Hsu *et al.*, 2006; Hsu *et al.*, 2011). In addition, several punctual mutations that alter activity AChE in *D. melanogaster* (Fournier *et al.*, 1993; Villatte *et al.*, 2000; Menozzi *et al.*, 2004), in *Musca domestica* (Kozaki *et al.*, 2001) and one punctual mutation in *G328A*, in *ace* of *Ceratitis capitata* in a population resistant to malathion (Couso, 2012) were identified. Hence, the biochemical and molecular studies of the AChE are extremely important to understand resistance mechanisms.

Monooxigenases (cytochromes P-450)

The monooxigenases known as cytochromes P-450 are enzymes implicated in the metabolism of endogenous and exogenous compounds such as pesticides, drugs and carcinogenic chemicals. In diptera, lepidoptera and coleopteran insects, the P-450 are involved in resistance cases to synthetic hormones and pesticides such as organochlorides, organophosphates, carbamates,

presentes en *A. gambiae* (Weill *et al.*, 2002; Fournier, 2005), sin embargo, en *D. melanogaster* la AChE es codificada únicamente por *ace2* (Fournier *et al.*, 1993; Weill *et al.*, 2002; Huchard *et al.*, 2006); estudios en otros insectos que poseen ambos genes, sugieren que *ace1* es el gen responsable de una mayor actividad de la AChE (Revuelta *et al.*, 2009; Revuelta *et al.*, 2011).

En algunos casos la resistencia se debe a alteraciones cuantificables en la actividad de la AChE (Hsu *et al.*, 2006), mismas que pueden ser variadas: 1) Las mutaciones puntuales en la secuencia de la enzima cambian su sensibilidad a los inhibidores (organofosforados y carbamatos); cinco sustituciones de aminoácidos (*F115S*, *I1199T*, *I199V*, *F368Y* y *G303A*) se encuentran en la secuencia de individuos resistentes en *D. melanogaster*, lo que sugiere mayor número de mutaciones en poblaciones de campo; y 2) La sobreexpresión de la AChE ya sea por sobretranscripción o por una duplicación génica conduce a resistencia, mediante un aumento en la cantidad de AChE en la sinapsis colinérgica (Villatte y Bachmann, 2002).

Se han demostrado alteraciones en la AChE en *Bactrocera oleae* (Vontas *et al.*, 2001; Vontas *et al.*, 2002; Hawkes *et al.*, 2005) y en *Bactrocera dorsalis* donde todas las líneas resistentes estudiadas presentan mutaciones en el gen *ace I214V*, *G488S* y *Q643R* (Hsu *et al.*, 2006; Hsu *et al.*, 2011). Además, fueron identificadas varias mutaciones puntuales que alteran la actividad AChE en *D. melanogaster* (Fournier *et al.*, 1993; Villatte *et al.*, 2000; Menozzi *et al.*, 2004), en *Musca domestica* (Kozaki *et al.*, 2001) y una mutación puntual *G328A*, en *ace* de *Ceratitis capitata* en una población resistente a malathion (Couso, 2012). Es por ello que los estudios bioquímicos y moleculares de la AChE son sumamente importantes para comprender los mecanismos de resistencia.

Monooxigenasas (citocromos P-450)

Las monooxigenasas conocidas como citocromos P-450, son enzimas implicadas en el metabolismo de compuestos endógenos y exógenos como plaguicidas, drogas y químicos carcinógenos. En insectos dípteros, lepidópteros y coleópteros, los P-450 están involucrados en casos de resistencia a hormonas y plaguicidas sintéticos como organoclorados, organofosforados, carbamatos, piretroides y reguladores de crecimiento (Feyereisen *et al.*, 1989; Feyereisen, 1999; Bisset, 2002; Fonseca y Quiñones, 2005).

Los P-450 son producto de la traducción de los genes *CYP*, el número de éstos varía según la especie, *D. melanogaster*

pyrethroids and growth regulators (Feyereisen *et al.*, 1989; Feyereisen, 1999; Bisset, 2002; Fonseca and Quiñones, 2005).

The P-450 are product of *CYP* gene translation, the number of these varies according to the species, *D. melanogaster* possess 90 in its genoma, from which 83 codify potentially functional proteins (French *et al.*, 2004; Couso, 2012); *A. gambiae* possesses a total of 111 *CYP* genes, from which only 106 codify functional proteins (Ranson *et al.*, 2002; Couso, 2012). These sequences facilitate the molecular analysis of such enzymatic complex.

The regulation of the transcription of *CYP* genes is produced both by influence of an endogenous metabolite and by a xenobiotic (Couso, 2012). A very used inductor is the phenobarbital, capable of activating the overexpression of more than 30 of these genes in different species. The first overexpression case in a *CYP* gene in insects was in *M. domestica*, where the gene *CYP6A1* is described to be inducible by phenobarbital and it is overexpressed with respect to a susceptible line (Feyereisen *et al.*, 1989); furthermore, it was confirmed that the gene *CYP6D1* in the same species is related with the resistance to pyrethroids, organophosphates and carbamates, in this species, the enzymatic expression is higher in larvae stadiums than in adults due to their chemical control being carried in larvae, provoking higher selection pressure than in adults (French *et al.*, 2013).

Conclusions

It is true that the application of pesticides directly contributes to the productive process in worldwide agriculture, by the rapid and efficient control that is exercised on the plague populations. However, by being used frequently, they provoke a negative impact on wildlife as: pollinators, populations that work as biological controllers, general biota, and the chemical contamination (water, soil and air), and the generation of resistance to insects.

Amongst the main biological strategies of insects to avoid toxic chemicals, there are detoxifying enzymes such as the GSTs, esterase and monooxygenases, just to mention a few. These enzymes possess the capacity to modify their activity, depending in both the applied concentrations, and the exposure period of the organisms to the active principal (selection pressure). One of

posee en su genoma 90, de los cuales 83 codifican proteínas potencialmente funcionales (French *et al.*, 2004; Couso, 2012); *A. gambiae* posee un total de 111 genes *CYP* de los cuales solo 106 codifican proteínas funcionales (Ranson *et al.*, 2002; Couso, 2012). Estas secuencias facilitan el análisis molecular de dicho complejo enzimático.

La regulación de la transcripción de los genes *CYP* se produce tanto por la influencia de un metabolito endógeno como por un xenobiótico (Couso, 2012). Un inductor muy empleado es el fenobarbital, capaz de activar la sobreexpresión de más de 30 de estos genes en distintas especies. El primer caso de sobreexpresión de un gen *CYP* en insectos fue en *M. domestica*, donde se describe que el gen *CYP6A1* es inducible por fenobarbital y este se sobreexpresa con respecto a una línea susceptible (Feyereisen *et al.*, 1989); de igual manera se confirmó que el gen *CYP6D1* en la misma especie está relacionado con resistencia a piretroides (Liu y Scott, 1996). En *Aedes aegypti*, los P-450 están asociados con resistencia a piretroides, organofosforados y carbamatos, en esta especie la expresión enzimática es mayor en estadios larvales que en adultos, debido a que su control químico se lleva a cabo en larvas, provocando mayor presión de selección que en adultos (French *et al.*, 2013).

Conclusiones

Es una realidad que la aplicación de insecticidas contribuye directamente al proceso productivo en la agricultura mundial, por el rápido y eficiente control que se ejerce sobre las poblaciones plaga. Sin embargo, al ser utilizados con alta frecuencia, provocan un impacto negativo sobre la vida silvestre como: polinizadores, poblaciones que funcionan como controladores biológicos, biota en general, así como la contaminación química (agua, suelo, aire), y la generación de resistencia en insectos.

Entre las principales estrategias biológicas de los insectos para evadir químicos tóxicos, se encuentran las enzimas detoxificadoras como las GSTs, las esterases y las monooxygenasas, por mencionar algunas. Estas enzimas poseen la capacidad de modificar su actividad, dependiendo tanto de las concentraciones aplicadas, como del periodo de exposición de los organismos al principio activo (presión de selección). Uno de los errores más graves que se cometen en la aplicación de insecticidas, es aumentar la dosis una vez que deja de ser efectiva, por ende, aquel o aquellos organismos que logren so-

the worst mistakes made in the application of pesticides is to increase the doses once it stops being effective, hence, those organisms that manage to survive inherit these genotype and phenotype resistance characteristics to the next generations, which could mean control failure in plague populations, problem that has been present since insecticides are frequently used in agriculture.

With the development of resistance to insecticides, researches on the mechanisms that produce them have increased. Nevertheless, most of the studies in literature come from a limited group of species, it is necessary to widen knowledge on many other agricultural plagues that generate millionaire costs by control, or millionaire loses by their presence in cultures. Knowing the mechanisms by which the resistance is produced allows to implement rapid, economic and reliable methods for their detection, which facilitates the use of insecticides profitable and sustainable.

It is clear that the strategies in the management of agricultural plagues are not only based in the chemical control, but in a combination of methods (chemical and non-chemical). If knowledge through a good Integrated Pest Management, applied to the productive agricultural system through the integrated support of government, investigators, producers and technical assessors, with actualization and constant capacitation, the introduction of opportune strategies in the management of field resistance. In addition, further work must be made in biological studies that include biochemistry and molecular biology as tools to know the resistance state of the plague populations, which will allow to identify the chemical molecules that must leave application programs, and to facilitate its selection and rational use.

Acknowledgements

To the National Council of Science and Technology for the master's scholarship granted to García-Rojas J. C., and the postgraduate program in Biological Agricultural Sciences in the Universidad Autónoma de Nayarit, for facilitating the database used in this work. In memory of M.C. Carlos Rubén Carvajal-Cazola.

References

Adams, M. D., Celniker, S. E., Holt, R. A., Evans, C. A., Gocayne, J. D., Amanatides, P. G., *et al.* (2000). The genome sequence of *Drosophila melanogaster*. *Science* 287(5461): 2185-2195. <http://science.sciencemag.org/content/287/5461/2185>

brevivir heredaran esas características genotípicas y fenotípicas de resistencia a las siguientes generaciones, lo que podría implicar un fracaso de control en las poblaciones plaga, problemática que se ha presentado desde que los insecticidas son utilizados frecuentemente en la agricultura.

Con el desarrollo de la resistencia a insecticidas, se han incrementado las investigaciones sobre los mecanismos que la producen. Sin embargo, la mayoría de los estudios que abundan en la literatura son de un grupo limitado de especies, es necesario ampliar el conocimiento de muchas otras plagas agrícolas que generan costos millonarios por su control, o bien pérdidas millonarias por su presencia en los cultivos. Conocer los mecanismos por los cuales la resistencia se produce permite implementar métodos rápidos, económicos y confiables para su detección, lo que facilita el uso de insecticidas de una forma rentable y sustentable.

Es claro, que las estrategias en el manejo de plagas agrícolas no se basan solo en el control químico, sino en una combinación de métodos (químicos y no químicos). Si se aplica el conocimiento a través de un buen Manejo Integrado de Plagas, aplicado al sistema productivo agrícola, mediante el trabajo conjunto de dependencias gubernamentales, investigadores, productores y asesores técnicos, con actualización y capacitación constante, se lograría la introducción de estrategias oportunas en el manejo de resistencia en campo. Además, se debe de profundizar en estudios biológicos que incluyan a la bioquímica y biología molecular como herramientas para conocer el estado de resistencia de las poblaciones plaga, lo que permitirá identificar las moléculas químicas que deben salir de los programas de aplicación, así como facilitar la selección y su uso racional.

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca para maestría otorgada a García-Rojas J. C., y al Posgrado en Ciencias Biológico Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Nayarit por facilitar las bases de datos utilizadas en el presente trabajo. En memoria del M.C. Carlos Rubén Carvajal-Cazola.

- Aiassa, D., Mañas, F., Bosch, B., Gentile, N., Bernardi, N., and Gorla, N. (2012). Biomarcadores de daño genético en poblaciones humanas expuestas a plaguicidas. *Acta Biológica Colombiana* 17(3): 485-510. <https://revistas.unal.edu.co/index.php/actabiol/article/view/32033/38987>
- Badii, M. H., and Garza, V. (2007). Resistencia en insectos, plantas y microorganismos. *CULCyT//Impacto ecológico* 4(18): 9-25.
- Badii, M. H., and Landeros, J. (2007). Plaguicidas que afectan a la salud humana y la sustentabilidad. *CULCyT//Toxicología de plaguicidas* 4(19): 21-34. <http://www.redalyc.org/pdf/919/91946517006.pdf>
- Banco Mundial (2015). Población total. In: <http://datos.bancomundial.org/indicador/SP.POP.TOTL?end=2015&start=1990> . Last checked: november 10th 2016.
- Bisset, J. A. (2002). Uso correcto de insecticidas: control de la resistencia. *Revista Cubana de Medicina Tropical* 54(3): 202-219. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0375-07602002000300005
- Carvalho, F. P. (2006). Agriculture, pesticides, food security and food safety. *Environmental Science & Policy* 9(7-8): 685-692. <http://jeffreydachmd.com/wp-content/uploads/2013/07/Agriculture-pesticides-food-security-and-food-safety-Fernando-P-Carvalho-2006.pdf>
- Chang, C., Cheng, X., Huang, X. Y., and Dai, S. M. (2014). Amino acid substitutions of acetylcholinesterase associated with carbofuran resistance in *Chilo suppressalis*. *Pest Management Science* 70(12): 1930-1935. DOI: [10.1002/ps.37](https://doi.org/10.1002/ps.37)
- Conway, G. R., and Pretty, J. N. (2009). Introduction to agriculture and pollution. Pp 1-16. In: *Unwelcome Harvest: agriculture and pollution*. Londres: Ed. Earthscan. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19911961221>
- Couso, F. (2012). Bases moleculares de la resistencia a insecticidas en la mosca mediterránea de la fruta *Ceratitis capitata* Wiedemann. Tesis de doctorado. Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España. <http://oa.upm.es/14658/>
- COFEPRIS (Comisión Federal para la Protección de Riesgos Sanitarios). (2016). Catálogo de plaguicidas. In: <http://www.cofepris.gob.mx/AZ/Paginas/Plaguicidas%20y%20Fertilizantes/CatalogoPlaguicidas.aspx> . Last checked: October 28th 2016.
- Del Puerto, A. M., Suárez, S., and Palacio, D. E. (2014). Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología* 52(3): 372-387. http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1561-30032014000300010&script=sci_abstract
- Deng, H., Huang, Y., Feng, Q., and Zheng, S. (2009). Two epsilon glutathione S-transferase cDNAs from the common cutworm, *Spodoptera litura*: characterization and developmental and induced expression by insecticides. *Journal of Insect Physiology* 55(12): 1174-1183. DOI: [10.1016/j.jinsphys.2009.08.017](https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2009.08.017)
- Díaz, C., Rodríguez, M. M., Fresneda, M., and Bisset, J. A. (2004). Determinación de la actividad glutatión-S-transferasa en cepas de *Culex quinquefasciatus* de Cuba y otros países de América Latina. *Revista Cubana de Medicina Tropical* 56(2): 111-116. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602004000200005
- Enayati, A. A., Ranson, H., and Hemingway, J. (2005). Insect glutathione transferases and insecticide resistance. *Insect Molecular Biology* 14(1): 3-8. DOI: [10.1111/j.1365-2583.2004.00529.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2583.2004.00529.x)
- FAO (La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). (2012). Código internacional de conducta para la distribución y utilización de plaguicidas. In: www.fao.org/publications. Last checked: november 25th 2014.
- FAO (La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). (2009). La FAO en México más de 60 años de colaboración. In: www.fao.org/publications. Last checked: november 15th 2014.
- Ferrer, A. (2003). Intoxicación por plaguicidas. *ANALES Sis San Navarra* 26(1): 155-171. http://scielo.iscii.es/scielo.php?pid=S1137-66272003000200009&script=sci_abstract
- Feyereisen, R., Koener, J. F., Farnsworth, D. E., and Nebert, D. W. (1989). Isolation and sequence of cDNA encoding a cytochrome P-450 from an insecticide-resistant strain of the house fly, *Musca domestica*. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 86(5): 1465-1469. <http://www.pnas.org/content/86/5/1465.full>
- Feyereisen, R. (1999). Insect P450 enzymes. *Annual Review of Entomology* 44: 507-533. <http://www.annualreviews.org/doi/full/10.1146/annurev.ento.44.1.507>
- Feyereisen, R. (1995). Molecular biology of insecticide resistance. *Toxicology Letters* 82/83: 83-90. DOI: [10.1016/0378-4274\(95\)03470-6](https://doi.org/10.1016/0378-4274(95)03470-6)
- Ffrench, R. H., Daborn, P. J., and Goff, G. L. (2004). The genetics and genomics of insecticide resistance. *TRENDS in Genetics* 20(3): 163-170. DOI: [10.1016/j.tig.2004.01.003](https://doi.org/10.1016/j.tig.2004.01.003)
- Flores, A. E., Badii, M. H., and Ponce, G. (2001). Resistencia a insecticidas en insectos vectores de enfermedades con énfasis en mosquitos. *Revista de la Facultad de Salud Pública y Nutrición* 2(4): 1-6. <http://respyn2.uanl.mx/ii/4/ensayos/pesticidas.html>

- Fonseca, I., and Quifiones, M. L. (2005). Resistencia a insecticidas en mosquitos (Diptera: Culicidae): mecanismos, detección y vigilancia en salud pública. *Revista Colombiana de Entomología* 31(2): 107-115. <http://www.scielo.org.co/pdf/rcen/v31n2/v31n2a01.pdf>
- Fournier, D., Mutero, A., Pralavorio, M., and Bride, J. (1993). *Drosophila* acetylcholinesterase: mechanisms of resistance to organophosphates. *Chemico-Biological Interactions* 87(1-3): 233-238. DOI: [10.1016/0009-2797\(93\)90047-3](https://doi.org/10.1016/0009-2797(93)90047-3)
- Fournier, D. (2005). Mutations of acetylcholinesterase which confer insecticide resistance in insect populations. *Chemico-Biological Interactions* 157/158: 257-261. DOI: [10.1016/j.cbi.2005.10.040](https://doi.org/10.1016/j.cbi.2005.10.040)
- French, L., Rodríguez, M. M., Bisset, J. A., Leyva, Y. R., Gutiérrez, G., and Fuentes, I. (2013). Actividad incrementada de las enzimas citocromo P450 monooxigenasas en cepas cubanas de *Aedes aegypti* de referencia, resistentes a insecticidas. *Revista Cubana de Medicina Tropical* 65(3): 328-338. <http://new.medigraphic.com/cgi-bin/resumen.cgi?IDARTICULO=47058>
- Gómez-Pérez, R., Rojas, G., Miranda-Contreras, L., Cruz, I., Berrueta, L., Salmen, S., Contreras, C., Balza, A., Zavala, L., Colmenares, M., Barreto, S., Morales, Y. and Osuna, J. A. (2011). Efectos de exposición ocupacional a plaguicidas sobre la integridad de la cromatina espermática. *Revista Venezolana de Endocrinología y Metabolismo*. 9(2): 67-78. http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1690-31102011000200005&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- González, B., and Bernal, A. (2000). Impacto social del uso de los plaguicidas en el mundo Matanzas: Ed. Universitaria, 13 Pp.
- Gutiérrez-Ramírez, A., Robles-Bermúdez, A., Santillán-Ortega, C., Ortiz-Catón, M. and Cambero-Campos, O. J. (2013). Control biológico como herramienta sustentable en el manejo de plagas y su uso en el estado de Nayarit, México. *Revista Bio Ciencias* 2(3): 102-112. <http://revista.uan.mx/index.php/BIOCIENCIAS/article/view/40/132>
- Hawkes, N. J., Janes, R. W., Hemingway, J., and Vontas, J. (2005). Detection of resistance-associated point mutations of organophosphate-insensitive acetylcholinesterase in the olive fruit fly, *Bactrocera oleae* (Gmelin). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 81(3): 154-163. DOI: [10.1016/j.pestbp.2004.11.003](https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2004.11.003)
- Hernández-Antonio, A., and Hansen, A. (2011). Uso de plaguicidas en dos zonas agrícolas de México y evaluación de la contaminación de agua y sedimentos. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 27(2): 115-127. <http://www.scielo.org.mx/pdf/rica/v27n2/v27n2a3.pdf>
- Holt, R. A., Subramanian, G. M., Halpern, A., Sutton, G. G., Charlab, R., Nusskern, D. R., et al. (2002). The genome sequence of the malaria mosquito *Anopheles gambiae*. *Science* 298(5591): 129-149. <http://science.sciencemag.org/content/298/5591/129>
- Hsu, J. C., Feng, H. T., Haymer, D. S. and Chen, Y. H. (2011). Molecular and biochemical mechanisms of organophosphate resistance in laboratory-selected lines of the oriental fruit fly (*Bactrocera dorsalis*). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 100(1): 57-63. DOI: [10.1016/j.pestbp.2011.02.005](https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2011.02.005)
- Hsu, J. C., Haymer, D. S., Wu, W. J. and Feng, H. T. (2006). Mutations in the acetylcholinesterase gene of *Bactrocera dorsalis* associated with resistance to organophosphorus insecticides. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 36(5): 396-402. DOI: [10.1016/j.ibmb.2006.02.002](https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2006.02.002)
- Hu, F., Dou, W., Wang, J., Jia, F. and Wang, J. (2014). Multiple glutathione S-transferase genes: identification and expression in oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis*. *Pest Management Science* 70(2): 295-303. DOI: [10.1002/ps.3558](https://doi.org/10.1002/ps.3558)
- Hu, W., Zhan, S., Xia, X., Xu, P., You, H., Jin, B. and Li, J. (2015). Identification and functional characterization of an epsilon glutathione S-transferase from the beet armyworm (*Spodoptera exigua*). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 71: 1-8. DOI: [10.1016/j.pestbp.2015.09.009](https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2015.09.009)
- Huchard, E., Martinez, M., Alout, H., Douzery, E., Lutfalla, G., Berthomieu, A., Berticat, C., Raymond, M. and Weill, M. (2006). Acetylcholinesterase genes within the Diptera: takeover and loss in true flies. *Proceedings of the Royal Society* 273(1601): 2595-2604. DOI: [10.1098/rspb.2006.3621](https://doi.org/10.1098/rspb.2006.3621)
- IRAC (Comité de Acción para la Resistencia a los Insecticidas). (2015). Clasificación del modo de acción de insecticidas y acaricidas. In: www.irc-online.org/countries/spain/. Last checked: august 20th 2015.
- Iriarte, A., Arbildi, P., La-Rocca, S., Musto, H. and Fernández, V. (2012). Identification of novel glutathione transferases in *Echinococcus granulosus*: An evolutionary perspective. *Acta Tropica* 123(3): 208-216. DOI: [10.1016/j.actatropica.2012.05.010](https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2012.05.010)
- Kozaki, T., Shono, T., Tomita, T. and Kono, Y. (2001). Fenitroxon insensitive acetylcholinesterases of the housefly, *Musca*

- domestica* associated with point mutations. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 31(10): 991-997. DOI: [10.1016/S0965-1748\(01\)00047-9](https://doi.org/10.1016/S0965-1748(01)00047-9)
- Lagunes-Tejeda, A., Rodríguez-Maciél, J. C., and De Loera-Barocio, J. C. (2009). Susceptibilidad a insecticidas en poblaciones de artrópodos de México. *Agrociencia* 43(2): 173-196. <http://www.scielo.org.mx/pdf/agro/v43n2/v43n2a9.pdf>
- Liu, H., He, J., Zhao, R., Chi, C. and Bao, Y. (2015). A novel biomarker for marine environmental pollution of pi-class glutathione S-transferase from *Mytilus coruscus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 118: 47-54. DOI: [10.1016/j.ecoenv.2015.04.012](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.04.012)
- Liu, N. and Scott, J. G. (1996). Genetic analysis of factors controlling high-level expression of cytochrome P450, CYP6D1, cytochrome b5, P450 reductase, and monooxygenase activities in LPR house flies, *Musca domestica*. *Biochemistry Genetics* 34(3-4): 133-148. <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00553609>
- Liu, N. (2012). Pyrethroid Resistance in insects: genes, mechanisms and regulation. En: Insecticides-advances in integrated pest management. Ed. Por Farzana Parveen, 457-464 pp. <https://doi.org/10.5772/28737>
- Lumjuan, N., Stevenson, B. J., Prapanthadara, L., Somboon, P., Brophy, P. M., Loftus, B. J., Severson, D. W. and Ranson, H. (2007). The *Aedes aegypti* glutathione transferase family. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 37(10): 1026-1035. DOI: [10.1016/j.ibmb.2007.05.018](https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2007.05.018)
- March, G. J. (2014). Producción agrícola y uso de plaguicidas. Pp 23-46. En: Agricultura y plaguicidas: un análisis global. Rio Cuarto, Argentina: Ed. FADA. http://fundacionfada.weebly.com/uploads/9/8/5/0/9850131/agricultura_y_plaguicidas_e-book_28.04.14.pdf
- Menozzi, P., Shi, M. A., Lougarre, A., Tang, Z. and Fournier, D. (2004). Mutations of acetylcholinesterase which confer insecticide resistance in *Drosophila melanogaster* populations. *BMC Evolutionary Biology* 4(4): 1-7. DOI: [10.1186/1471-2148-4-4](https://doi.org/10.1186/1471-2148-4-4)
- Mutero, A., Pralavorio, M., Bride, J. M. and Fournier, D. (1994). Resistance-associated point mutations in insecticide insensitive acetylcholinesterase. *National Academy of Sciences USA* 91(13): 5922-5926. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC44109/pdf/pnas01135-0197.pdf>
- Nava, E., García, C., Camacho, J. R. and Vázquez, E. L. (2012). Bioplaguicidas: una opción para el control biológico de plagas. *Revista de Sociedad, Cultura y Desarrollo Sustentable* 8(3): 17-29. https://www.researchgate.net/publication/273062519_BIOPLAGUICIDAS_UNA OPCION PARA EL CONTROL BIOLOGICO DE PLAGAS
- Orta, L. (2002). Contaminación de las aguas por plaguicidas químicos. *Fitosanidad* 6(3): 55-62. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?idp=1&id=209118292006&cid=42241>
- Ortelli, F., Rossiter, L., Vontas, J., Ranson, H. and Hemingway, J. (2003). Heterologous expression of four glutathione transferase genes genetically linked to a major insecticide-resistance locus from the malaria vector *Anopheles gambiae*. *Biochemical Society Journal* 373(3): 957-963. DOI: [10.1042/bj20030169](https://doi.org/10.1042/bj20030169)
- Peña, C. E., Carter, D. and Ayala, F. (2001). Toxicología ambiental: evaluación de riesgos y restauración ambiental. The University of Arizona, Southwest hazardous waste program. In: <http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/> Last checked: November 9th 2016.
- Ranson, H., Claudianos, C., Ortelli, F., Abgrall, C., Hemingway, J., Sharakhova, M. V., Unger, M., Collins, F. and Feyereisen, R. (2002). Evolution of supergene families associated with insecticide resistance. *Science* 298(5591): 179-81. DOI: [10.1126/science.1076781](https://doi.org/10.1126/science.1076781)
- Revuelta, L., Ortego, F., Díaz, J. R., Castañera, P., Tenllado, F. and Hernández, P. (2011). Contribution of *Ldace1* gene to acetylcholinesterase activity in colorado potato beetle. *Insect Biochemistry Molecular Biology* 41(10): 795-803. DOI: [10.1016/j.ibmb.2011.06.001](https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2011.06.001)
- Revuelta, L., Piulachs, M. D., Bellés, X., Castañera, P., Ortego, F., Díaz, J. R., Hernández, P. and Tenllado, F. (2009). RNAi of *ace1* and *ace2* in *Blattella germanica* reveals their differential contribution to acetylcholinesterase activity and sensitivity to insecticides. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 39(12): 913-919. DOI: [10.1016/j.ibmb.2009.11.001](https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2009.11.001)
- Rodríguez, J. C. (2005). Resistencia a insecticidas: de la teoría a la práctica. In: http://www.cm.colpos.mx/moodle/file.php/13/BASES_DEL_RESISTENCIA_A_INSECTICIDAS.pdf. Last checked: January 20th 2016.
- Sheehan, D., Meade, G., Foley, V. and Dowd, C. (2001). Structure, function y evolution of glutathione transferases: implica-

- tions for classification of non-mammalian members of an ancient enzyme superfamily. *Biochemistry Journal* 360(1): 1-16. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11695986>
- Trumper, E. V. (2014). Resistencia de insectos a cultivos transgénicos con propiedades insecticidas; teoría, estado del arte y desafíos para la República Argentina. *Agriscientia* 31(2): 109-126. http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1668-298X2014000200006&lng=es&tlng=es
- Umasuthan, N., Saranya, K., Lee, Y., Whang, I., Young, C., and Lee, J. (2012). A novel molluscan sigma-like glutathione S-transferase from Manila clam, *Ruditapes philippinarum*: Cloning, characterization and transcriptional profiling. *Comparative Biochemistry and Physiology* 155(4): 539-550. DOI: [10.1016/j.cbpc.2012.01.001](https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2012.01.001)
- Varona, M., Henao, G. L., Díaz, S., Lancheros, A., Murcia, Á., Rodríguez, N. and Álvarez, V. (2009). Evaluación de los efectos del glifosato y otros plaguicidas en la salud humana en zonas objeto del programa de erradicación de cultivos ilícitos. *Biomédica* 29(3): 456-475. DOI: [10.7705/biomedica.v29i3.16](https://doi.org/10.7705/biomedica.v29i3.16)
- Villatte, F. and Bachmann, T. T. (2002). How many genes encode cholinesterase in arthropods? *Pesticide Biochemistry and Physiology* 73(2): 122-129. DOI: [10.1016/S0048-3575\(02\)00002-0](https://doi.org/10.1016/S0048-3575(02)00002-0)
- Villatte F., Ziliani P., Marcel V., Menozzi P. and Fournier, D. (2000). A high number of mutations in insect acetylcholinesterase may provide insecticide resistance. *Pesticide Biochemistry Physiology* 67(2): 95-102. DOI: [10.1006/pest.2000.2478](https://doi.org/10.1006/pest.2000.2478)
- Vontas, J. G., Cosmidis, N., Loukas, M., Tsakas, S., Hejazi, M. J., Ayoutanti, A. and Hemingway, J. (2001). Altered acetylcholinesterase confer organophosphate resistance in the olive fruit fly *Bactrocera oleae*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 71(2): 124-132. DOI: [10.1006/pest.2001.2568](https://doi.org/10.1006/pest.2001.2568)
- Vontas, J. G., Hejazi, M. J., Hawkes, N. J., Cosmidis, N., Loukas, M. and Hemingway, J. (2002). Resistance-associated point mutations of organophosphate insensitive acetylcholinesterase, in the olive fruit fly *Bactrocera oleae*. *Insect Molecular Biology* 11(4): 329-336. DOI: [10.1046/j.1365-2583.2002.00343.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2583.2002.00343.x)
- Weill, M., Fort, P., Berthomieu, A., Dubois, M. P., Pasteur, N. and Raymond, M. (2002). A novel acetylcholinesterase gene in mosquitoes codes for the insecticide target and is non-homologous to the *ace* gene in *Drosophila*. *Proceedings of the Royal Society* 269(1504): 2007-2016. DOI: [10.1098/rspb.2002.2122](https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2122)
- Xi, J., Pan, Y., Bi, R., Gao, X., Chen, X., Peng, T., Zhang, M., Zhang, H., Hu, X. and Shang, Q. (2015). Elevated expression of esterase and cytochrome P450 are related with lambda-cyhalothrin resistance and lead to cross resistance in *Aphis glycines* Matsumura. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 118: 77-81. DOI: [10.1016/j.pestbp.2014.12.002](https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2014.12.002)
- Ying, L., Wei, T., Nai, T. and Yi, L. (2013). Biochemical and molecular analyses to determine pyrethroid resistance in *Aedes aegypti*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 107(2): 266-276. DOI: [10.1016/j.pestbp.2013.08.004](https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2013.08.004)
- Yu, Q., Lu, C., Li, B., Fang, S., Zuo, W., Dai, F., Zhang, Z. and Xiang, Z. (2008). Identification, genomic organization and expression pattern of glutathione S-transferase in the silkworm, *Bombyx mori*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 38(12): 1158-1164. DOI: [10.1016/j.ibmb.2008.08.002](https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2008.08.002)
- Zhao, M., Dong, Y., Ran, X., Wu, Z., Guo, X., Zhang, Y., Xing, D., Yan, T., Wang, G., Zhu, X., Zhang, H., Li, C. and Zhao, T. (2014). Point mutations associated with organophosphate and carbamate resistance in chinese strains of *Culex pipiens quinquefasciatus* (Diptera:Culicidae). *Plos One* 9(5): 1-10. DOI: [10.1371/journal.pone.0095260](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095260)

Cite this paper/Como citar este artículo: García-Rojas J. C., Robles-Bermúdez A., Cambero-Campos O. J., Carvajal-Cazola C. R., Peña-Sandoval G. R. (2017). Metabolic resistance to insecticides. *Revista Bio Ciencias* 4(6), 16 pages, Article ID: 04.06.01. <http://revistabiociencias.uan.mx/index.php/BIOCIENCIAS/artic/view/ID%3A04.06.01>

