

LOS INSECTICIDAS Y LA RESISTENCIA DE LAS PLAGAS: LAS CONSECUENCIAS DEL ABUSO¹

Estoy muy agradecido por la confianza que ustedes depositaron en mí para presentar esta conferencia. Dicho honor debe ser compartido con la Universidad de California por haberme proporcionado los medios para realizar mi investigación, con mis asistentes de laboratorio, estudiantes e investigadores quienes han contribuido generosamente tanto con esfuerzo como con ideas.

INTRODUCCIÓN

Hace 40 años, cuando la Academia Suiza le otorgó el Premio Nobel a Paul Müller por el descubrimiento DDT, nadie dudó de los grandes beneficios que se derivaron de su uso: las plagas agrícolas más peligrosas pudieron controlarse con DDT como nunca antes había ocurrido; las enfermedades transmitidas por insectos como la malaria, estaban en retirada; era sólo cuestión de tiempo para que una cantidad suficiente de este insecticida maravilloso estuviera disponible para aplicarlo a los sitios de reproducción de las langostas, a los graneros de las personas desnutridas, y a las chozas infestadas de mosquitos en los trópicos. Por supuesto que el premio que recibió el Dr. Müller lo tenía bien merecido.

Pero el tiempo parecía estar en contra del ser humano: un fenómeno que se había observado muchos años atrás (Melander 1914) pero que fue virtualmente ignorado, empezó gradualmente a provocar que la euforia se sustituyera por la preocupación y la duda. Las razones son bien conocidas: una tras otra, las plagas más severas empezaron a mostrar signos de desarrollo de resistencia al DDT. En los 40 años que han transcurrido desde entonces, casi todos los insecticidas importantes han seleccionado razas resistentes tanto en las especies bajo control como otras especies del ecosistema.

¹Georghiou, G.P. y Ch. E. Taylor. 1986. Factors influencing the evolution of resistance, pp 157-169. En: E.H. Glass (Ed.). Pesticide resistance. Strategies and tactics for management. National Academy Press, Washington, D.C.

Recientemente enfatice que “mientras que la presencia de la resistencia fue un fenómeno raro durante la primera mitad de los 50's, es la población susceptible la que es rara durante los 80's” (Georghiou 1986).

Debido a que los casos de resistencia van en aumento y la cantidad de insecticidas en el mercado va en declive, uno se pregunta si el combate químico de plagas, como se practica en la actualidad, es sustentable en la era de la resistencia a insecticidas. En el presente documento se resumen los aspectos pertinentes a la resistencia y se describe la investigación que hemos realizado para conocer con más detalle este fenómeno y eventualmente manejarlo.

A. Efecto de los insecticidas sobre los insectos

Quisiera hacer mención de una escena que ha ocurrido muchas veces durante los últimos años: una avioneta fumigadora llega a un campo agrícola muy temprano en la mañana y empieza a asperjarlo, tratando al cultivo sistemáticamente para controlar sus plagas. A medida que la aspersión llega a las plantas, algunos insectos pueden escapar volando, pero muchos caerán inmediatamente al suelo, las larvas que están sobre follaje quedan perturbadas, irritadas, y gradualmente son afectadas hasta morir. Los sobrevivientes pueden ser raros: algunas larvas bien desarrolladas pueden caer al suelo e intentar pupar de manera prematura. Si entre los sobrevivientes hay algunos que posean un mecanismo de resistencia genéticamente determinado, la población está en camino de desarrollar resistencia.

La aplicación de un insecticida es, sin duda alguna, un evento catastrófico para la población de insectos. Las aspersiones calendarizadas a intervalos frecuentes tienen un efecto profundo en la composición genética de la población: la frecuencia de individuos resistentes se incrementa de manera progresiva y el insecticida eventualmente pierde su efectividad biológica. El diccionario Webster define al “abuso” como un “uso o tratamiento

inadecuado". Muchos entomólogos familiarizados con la resistencia consideran que los genes de susceptibilidad a insecticidas constituyen un recurso que debe conservarse. ¿Cómo podríamos lograrlo sin que los insecticidas dejen de ser una herramienta poderosa? Este es uno de los grandes retos en la producción de alimentos y en el mejoramiento de la salud pública.

B. La necesidad de usar insecticidas

No hay duda de que el ser humano se ha vuelto extremadamente dependiente de los insecticidas, ignorando así otros enfoques tradicionales del combate de plagas. Los insecticidas han llegado a ser parte de nuestra infraestructura económica y, junto con otros avances, han contribuido indirectamente a la explosión demográfica de la población humana. Con el anticipado incremento en la demanda de alimentos, fibras y una mejor salud, es cierto que el control químico continuará siendo indispensable en el futuro.

El incremento en la población humana mundial de 2,000 a 3,000 millones ha requerido de 30 años (Fig. 1). Pero el cuarto millón se ha adicionado en tan sólo 16 años, y el quinto millón en 11 años. Sobre la base de los 6,400 millones proyectados para 1990, la población se habrá triplicado desde 1930 (Braunholtz 1981). La demanda de plaguicidas ha crecido a una tasa mayor que la población humana durante los últimos 30 años. De acuerdo con las estadísticas, el costo de los plaguicidas usados en 1985 a nivel mundial fue de 13,700 millones de dólares, de los cuales los insecticidas representan un costo al usuario de 4,200 millones de dólares (Figura 1) (Anónimo 1985). No hay duda de que el uso de sustancias tóxicas en el ambiente, a tal escala, requiere de un estudio frecuente y objetivo.

II. LA EVOLUCIÓN DE LA RESISTENCIA

A diferencia del ser humano, el cual ha obtenido varios beneficios de los insecticidas, la situación de los insectos ha sido más que envidiable. Por supuesto que esta no es una sorpresa, ya que los insectos son los competidores más importantes del ser humano, y los

insecticidas se usan para su destrucción. Sin embargo, como animales con una habilidad probada para adaptarse a un ambiente cambiante que data desde la era del carbonífero, y con al menos un millón de especies que han evolucionado a la fecha, los insectos tienen que ser considerados con mayor seriedad. En retrospectiva, la evolución de la resistencia era de esperarse. Hubiera sido una sorpresa si ésta no se hubiera desarrollado.

Figura 1. Proyección del crecimiento poblacional y mercado mundial de plaguicidas (Recopilado de Brauholtz 1981),

A. ¿Cómo los insectos resisten a los insecticidas?

A diferencia de la evolución de los caracteres morfológicos, los cuales requieren quizás miles de años de selección, la resistencia a insecticidas evoluciona en forma relativamente rápida y es primariamente un fenómeno bioquímico. Esta se basa en la selección de genes que codifican enzimas involucradas en el metabolismo de insecticidas, o bien que confieren insensibilidad a ellos. Como se muestra esquemáticamente en la

Fig. 2 el círculo representa una sección transversal del insecto: la parte izquierda del círculo corresponde a un insecto susceptible, y la derecha a un insecto resistente. Normalmente, los insecticidas penetran a través del integumento y rápidamente alcanzan el sitio de acción. Este sitio puede ser una enzima vital o un tejido nervioso. Las moléculas de insecticida se unen a este sitio, causando la muerte del insecto. La resistencia se puede desarrollar en cada etapa de esta ruta. El integumento se puede volver menos permeable, reduciendo de esta manera la velocidad entrada del insecticida. Se pueden producir enzimas metabólicas nuevas o más abundantes, metabolizando el insecticida de manera más eficiente. O bien, se pueden seleccionar sitios de acción alterados a los cuales la molécula insecticida ya no se puede ensamblar. De estos tres tipos de mecanismos, el metabolismo y la insensibilidad nerviosa son los más importantes. Una reducción en la tasa de penetración del insecticida ayuda a ambos mecanismos de una manera sinergista.

Los individuos que poseen los genes responsables de controlar dichos mecanismos son inicialmente raros en las poblaciones naturales. Estos ocurren a una frecuencia estimada que fluctúa entre 10^{-8} y 10^{-5} (Whitten y McKenzie 1982). Debido a que estos individuos son los únicos que realmente pueden sobrevivir a la exposición de insecticidas, eventualmente constituyen una proporción creciente en la población, mientras que su contraparte susceptible es eliminada progresivamente.

Figura 2. Representación esquemática de los tres principales tipos de mecanismos resistencia. La sección transversal izquierda corresponde a un insecto susceptible y la derecha a un insecto resistente.

El grado de resistencia puede ser extremadamente alto. En una demostración de laboratorio, una mosca doméstica fue capaz de sobrevivir a una dosis de DDT que mataría a 50,000 moscas susceptibles. El tiempo de selección que se requiere para el desarrollo de resistencia es variable. Este puede tomar de 15 a 20 generaciones o más, dependiendo de la naturaleza química del insecticida y del grado de presión de selección que se aplica. Desde un punto de vista evolutivo, se trata de un tiempo relativamente corto.

Dicha microevolución acelerada implica costos adicionales para el insecto. Como lo veremos posteriormente, la síntesis de una gran cantidad de enzimas destoxificantes puede ocurrir a costa de otros caracteres importantes que están asociados con la capacidad biótica, tales como la tasa de crecimiento y maduración, longevidad, o reproducción.

Existen otras consecuencias del abuso en el empleo de insecticidas, aparte de la resistencia, que también tienen un efecto directo sobre el ser humano: por ejemplo la eliminación de insectos benéficos, la resurgencia de especies plaga que tienen a su favor una tasa reproductiva más alta, o una habilidad natural para metabolizar insecticidas de manera más eficientes. Sin embargo es la resistencia a insecticidas la que ha atraído mayor atención debido a su obvio impacto desfavorable sobre la producción agrícola y la salud pública.

B. La resistencia a insecticidas ayer y ahora.

Sabemos que la resistencia a insecticidas no se presenta exclusivamente en los insectos. Esta ocurre en formas relativamente simples tales como bacterias, virus, así como en vertebrados y plantas. Este fenómeno también involucra a una variedad de sustancias tóxicas, por ejemplo antibióticos, antimaláricos, coccidiostatos, insecticidas, fungicidas, rodenticidas y herbicidas. También es evidente que mientras la capacidad para desarrollar resistencia es universal, aquellas sustancias químicas que empleamos como insecticidas han ido más allá de interaccionar con los insectos y han provocado el desarrollo de resistencia en prácticamente todos los tipos de organismos, desde los virus hasta los mamíferos.

En virtud del incremento constante en el uso de insecticidas organosintéticos una vez que se introdujo el DDT poco después de la Segunda Guerra Mundial, no es una sorpresa que haya ocurrido un significativo número de casos de resistencia. Desde el primer caso de resistencia que se detectó en la escama de San José, en 1905, donde estuvo involucrado el sulfuro de calcio (Melander 1914), el número de especies resistentes se incrementó paulatinamente hasta 12 a principios de la década de los 40's y después exhibió un crecimiento exponencial (Fig. 3). El banco de datos que sobre casos de resistencia a nivel mundial mantenemos para la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación (FAO) (Georghiou 1981), muestra que para finales del año de

1986, al menos 490 especies de insectos y ácaros habían desarrollado resistencia a una o más clases de insecticidas. Esta cifra subestima la frecuencia de casos de resistencia, pues muchos de ellos no han sido investigados ni documentados. Además, este valor representa al número de especies involucradas, pero no incluye los casos de resistencia múltiple, i.e. el desarrollo de resistencia a un segundo, a un tercero, o más tipos de insecticidas en la misma especie.

La frecuencia de resistencia en varios Ordenes de artrópodos (Fig. 4) refleja la magnitud a la cual cada Orden ha sido objeto de un estrés químico severo. Los insectos del Orden Diptera contienen la mayor proporción relativa de especies resistentes, alrededor de un 30% del total; sin lugar a dudas esto se debe al amplio uso de insecticidas en el combate de moscas y mosquitos vectores de enfermedades al ser humano. Sin embargo, una gran cantidad de casos de resistencia se ha detectado en Ordenes de importancia agrícola tales como Coleoptera, Lepidoptera, Homoptera, así como Acarina.

Figura 3. Incremento cronológico en el número de especies de insectos y ácaros con resistencia a por lo menos un insecticida. Véase el año de introducción de las clases nuevas de insecticidas (OF = organofosforado, CARB = carbamato, PIR = piretroide).

Figura 4. Distribución de especies resistentes en varios Órdenes de insectos y ácaros.

Los datos comparativos por grupo químico muestran que el 58.6% de las especies resistentes pueden resistir a insecticidas de la clase del BHC/Dieldrín, 52.9% al DDT, y 50% a insecticidas organofosforados (Fig. 5). Sin lugar a dudas estos porcentajes no sólo reflejan el uso masivo de cada clase de insecticidas, pero también su persistencia relativa en el medio ambiente.

C. Consecuencias de la resistencia

En un reporte reciente que el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos envió al Congreso, se puso un énfasis especial en las cuatro consecuencias de la resistencia (USDA 1986):

1. Incremento en los costos de combate debido a aplicaciones más frecuentes y a la necesidad de cambiar a insecticidas alternativos más costosos.
2. Abandono de cultivos debido a la carencia de insecticidas alternativos eficientes.

3. Incremento en los costos de la investigación tendiente a desarrollar plaguicidas nuevos.
4. El consumidor es quien paga las consecuencias de los costos de producción ocasionados por la resistencia.

Figura 5. Número de especies resistentes a cada clase de insecticidas

Los costos económicos de la resistencia son difíciles de estimar debido a las consecuencias indirectas de la presencia de los insecticidas en el medio ambiente. En una encuesta que llevó a cabo Pimentel et al. (1979), se considera que los costos directos de la resistencia en los Estados Unidos de América es de alrededor de \$130 millones de dólares americanos. A nivel mundial, hemos estimado que dichos costos son del orden de \$1,000 millones de dólares (Georghiou 1986). Los costos indirectos pueden ser muy severos, especialmente en términos de inversión económica sobre desarrollo de plaguicidas nuevos que no son redituables.

Las crisis causadas por la resistencia son muy numerosas como para describirlas en este documento. Los siguientes ejemplos ilustran muy bien la magnitud de este problema:

La catarinita de la papa:

En la isla Long, que se localiza en Nueva York (EUA), el uso intensivo de insecticidas para el combate de la catarinita de la papa ha conllevado a la selección de una raza cuya

resistencia se ha expandido rápidamente a todos los insecticidas que se han utilizado (Cuadro 1) (Forgash 1985). Recientemente, se han hecho esfuerzos para controlar esta especie utilizando rotenona, un alcaloide vegetal que se ha usado como insecticida por más de un siglo hasta que fue sustituido por el DDT. Desafortunadamente, la efectividad de la rotenona ha declinado sustancialmente, por lo que se ha necesitado mezclarla con el sinergista butóxido de piperonilo, para activarla.

El mosquito Anopheles, vector de la malaria:

En Pakistán, el programa de control de la malaria ha provocado que los mosquitos vectores desarrollen resistencia a los insecticidas empleados: DDT, BHC, y malatión (Fig. 6). La resistencia a cada uno de estos insecticidas apareció en aproximadamente cinco años después de haber introducido el insecticida respectivo en el programa. En cada caso, el desarrollo de la resistencia coincidió con un incremento en los casos de malaria. Este es otro ejemplo de cómo el mosquito *Anopheles* desarrolla resistencia a los insecticidas que se aplican intradomiciliariamente para interrumpir la transmisión de la malaria.

Cuadro 1. Cronología abreviada de la resistencia a insecticidas en una población de la catarinita de la papa procedente de la isla Long, Nueva Cork (de Forgash 1985).

Insecticida	Año de Introducción	Primer año en que el insecticida fracasó
Arsenicales	1880	1940's
DDT	1945	1952
Dieldrín	1954	1957
Endrín	1957	1958
Carbaril	1959	1963
Azinfós metílico	1959	1964
Monocrotofós	1973	1973
Fosmet	1973	1973
Forato	1973	1974
Disulfotón	1973	1974
Carbofurán	1974	1978
Oxamil	1978	1978
Fenvalerato	1979	1981
Permetrina	1979	1981
Fenvalerado + Butóxido de piperonilo	1982	1983

D. Opciones al dilema de la resistencia

En virtud de la gravedad del problema de la resistencia, estamos forzados a tomar en cuenta las tácticas y estrategias para prevenir que este fenómeno alcance límites inaceptables. Como resultado de las investigaciones que en los últimos años se han realizado en un grupo selecto de laboratorios, ha emergido una serie de principios para el “manejo de la resistencia” (Georghiou 1983). El éxito de dichos principios, y las prácticas que involucran, depende de un conocimiento profundo que se tenga de los mecanismos de resistencia y de la dinámica de la resistencia en poblaciones naturales. El objetivo primordial del manejo de la resistencia consiste en mantener el nivel de susceptibilidad de la plaga dentro de los límites que permiten el uso continuo de plaguicidas (Fig. 7).

Figura 6. Tipo y cantidad de insecticida que se aplicó anualmente para el control de la malaria en Paquistán, año en que se documentó el primer caso de resistencia a cada insecticida, y cambios en la incidencia de la malaria.

Figura 7. Conceptualización del manejo de la resistencia como la contención de la frecuencia de genes de resistencia dentro de límites aceptables.

III. HECHOS IMPORTANTES EN LA INVESTIGACIÓN

He tenido la fortuna de ser expuesto al problema de la resistencia en una etapa temprana de mi carrera profesional. La resistencia a insecticidas ha sido mi área de especialización desde 1958 cuando ingresé a la Universidad de California en Berkeley como estudiante graduado y realicé mi investigación de tesis doctoral bajo la guía del Dr. Roberto L. Metcalf. Desde entonces, en mi laboratorio se ha investigado la resistencia a todos los grupos importantes de insecticidas, entre los que destacan el DDT, ciclodienos, organofosforados, carbamatos, mímicos de la hormona juvenil, inhibidores de la sintetasa de la quitina, piretroides y bioplaguicidas (BT). En cada caso se ha estudiado el potencial

de desarrollo de la resistencia, su genética, los mecanismos específicos involucrados, y más recientemente las estrategias y tácticas para su manejo. La parte final de este documento contiene una descripción breve de las investigaciones más importantes que hemos realizado y se le da un énfasis especial a los hallazgos más importantes.

A. Potencial para desarrollar resistencia

La resistencia a insecticidas es una consecuencia inevitable del uso intensivo de insecticidas para el control de una población de insectos. En nuestro laboratorio, la selección simulada confirma una propensión considerable de los insectos para desarrollar resistencia a insecticidas nuevos o que tengan un modo de acción novedoso. La Fig. 8 muestra los resultados de la selección con insecticidas en la mosca doméstica o mosquitos durante los últimos años. La resistencia se desarrolló en todos los casos. Sin embargo, el grado de resistencia a cada insecticida y el número de generaciones que se necesitó para desarrollarla mostró diferencias considerables. La resistencia se desarrolló muy rápidamente y a un nivel más alto hacia el piretroide permetrina y más lentamente y a un nivel más bajo hacia el complejo de toxinas que produce la bacteria *Bacillus thuringiensis israelensis*. Estas toxinas, y otros productos similares derivados de organismos que son patógenos a insectos, son muy prometedores debido a su origen natural. Más importante aún, debido a que es posible mejorarlos mediante ingeniería genética.

Figura 8. Niveles y tasas comparativas de desarrollo de resistencia obtenida seleccionando poblaciones de mosca doméstica o mosquitos, con diferentes insecticidas bajo condiciones de laboratorio.

B. Procedimientos noveles y específicos para la detección de la resistencia.

Un ingrediente esencial en el manejo de la resistencia es la disponibilidad de procedimientos prácticos para detectar la presencia de cada mecanismo de resistencia en un individuo en particular. De esta manera, la frecuencia de la resistencia en una población dada se puede inspeccionar. Por lo tanto, se puede evaluar la efectividad de determinada estrategia de manejo de la resistencia. El trabajo desarrollado en nuestro laboratorio hace aproximadamente 10 años (Georghiou y Pasteur 1978, Georghiou et al. 1980) condujo al desarrollo de la prueba del papel filtro para detectar la presencia de esterasas asociadas con resistencia a organofosforados en mosquitos (Pasteur y Georghiou 1981). Esta prueba (Fig. 9) permite la detección de dicho mecanismo de resistencia en un mosquito determinado, mediante la presencia de una mancha rojo-púrpura en un pedazo de papel filtro sobre el cual previamente se había depositado una gota (2 μ L) de un mosquito homogenado.

Figura 9. Prueba del papel filtro (Prueba FP/Est) para la detección de resistencia en mosquitos. Las manchas oscuras corresponden a insectos resistentes y las claras a insectos susceptibles.

También desarrollamos una prueba similar para detectar, en un solo insecto, la presencia de acetilcolinesterasa insensible (O. Dary y G.P. Georghiou, en preparación¹). Puesto que dichos procedimientos requieren de sólo algunos minutos, en vez de días como ocurre con los bioensayos tradicionales, han atraído una atención considerable por su aplicación práctica en campo, así como herramientas de investigación en laboratorio.

C. Dinámica de la resistencia

La dinámica de la resistencia es otra área en la que también han ocurrido avances importantes. Se sabe que la resistencia se desarrolla a una tasa diferente en cada circunstancia. Por lo tanto, al mejorar nuestra habilidad para predecir el riesgo de la resistencia, incrementamos las posibilidades de diseñar estrategias de manejo de la resistencia más efectivas.

Hace algún tiempo, en colaboración con el profesor Charles Taylor, identificamos varios factores que influyen en la evolución de la resistencia y los clasificamos en tres categorías: genéticos, biológicos y operacionales (Cuadro 2) (Georghiou y Taylor 1976). Por medio del uso de modelos, cuantificamos la influencia de cada uno de estos factores y mostramos que algunos de ellos (dominancia génica, aislamiento poblacional, persistencia ambiental del insecticida, etc.) están correlacionados positivamente con la resistencia, mientras que otros (inmigración, presencia de refugios, etc.) tienen una influencia negativa (Georghiou y Taylor 1977a, b). Si se expresa cuantitativamente la influencia de cada factor clave, se puede desarrollar un modelo que mida el riesgo de

resistencia en cada situación. Este riesgo se puede reducir mediante modificaciones apropiadas a uno o más de los factores operacionales (véase Cuadro 2), puesto que estos están bajo control humano. Varios modelos de diferente grado de complejidad se han desarrollado en años recientes como un esfuerzo para optimizar las estrategias de manejo de la resistencia (Comway y Comins 1979, Knipling y Klassen 1984, Muggleton 1982, Sutherst et al. 1979, Taylor y Georghiou 1979, Taylor et al. 1983).

Cuadro 2. Factores que afectan la tasa de selección de resistencia. (+ ó – indica una correlación positiva o negativa con la resistencia, respectivamente) (de Georghiou y Taylor 1976, con modificaciones)

Factor	Correlación con la resistencia	
A. GENETICOS		
Número de genes de resistencia	+	-
Frecuencia de genes de resistencia	+	
Dominancia de los genes de resistencia	+	
Penetración y expresividad de los genes de resistencia	+	
Historia de la selección con insecticidas relacionados	+	
Integración de los genes de resistencia con la capacidad biótica	+	
B. BIOLÓGICOS/ECOLÓGICOS		
Duración de la generación	+	
Cantidad de descendientes por generación	+	
Poligamia	+	
Partenogénesis	-	
Monofagia	+	-
Presencia de “refugios”	-	
Aislamiento	+	
Movilidad, dispersión	-	
C. OPERACIONALES		
Naturaleza química del plaguicida	+	-
Persistencia de los residuos	+	
Umbral de aplicación	-	
Umbral de selección	+	
Dosis del plaguicida	+	-
Estado biológico controlado	+	-
Cubrimiento incompleto	-	
Selección poco frecuente a alternada	-	

D. Manejo de la resistencia

Hemos agrupado los enfoques del manejo de la resistencia en tres categorías: manejo por moderación, manejo por saturación y manejo por ataque múltiple (Cuadro 3) (Georghiou 1983).

1. Manejo por moderación.

En el manejo por moderación se reconoce que los genes de susceptibilidad son un recurso valioso por lo que es importante conservarlos mediante el uso de dosis de insecticidas que no maten a todos los individuos susceptibles. Otras medidas dentro de este sistema de manejo se incluyen al uso de insecticidas poco persistentes, aplicaciones poco frecuentes, preservación de refugios de insectos susceptibles o preservación de áreas sin tratar, y se pone un énfasis especial sobre adulticidas más que sobre larvicidas, mientras sea posible. Las medidas del manejo por moderación son extremadamente conservadoras, y en muchos casos se deben complementar con medidas importantes de combate no químico dentro del contexto del manejo integrado de plagas (MIP).

2. Manejo por saturación.

Mientras el manejo por moderación está muy cerca de satisfacer los estándares ambientales y es menos destructivo a los agentes de control biológico, éste pudiera no ser el más adecuado cuando se trate de proteger cultivos altamente redituables o erradicar plagas recientemente introducidas. El término “saturación” no implica la saturación del medio ambiente con plaguicidas. Más bien quiere decir la saturación de los mecanismos

de defensa del insecto con dosis suficientemente altas como para vencer la resistencia. Este enfoque es importante cuando los genes de resistencia son raros, es decir que existen en estado heterocigoto, por ejemplo, durante los primeros estados de la selección con insecticidas. Dentro de las formulaciones que pueden liberar una dosis alta sobre “el objetivo” tenemos a los microencapsulados, y a la mezcla de insecticidas con atrayentes alimenticios (como ocurre con las aspersiones para la erradicación de la mosca en mediterráneo), éstas provocan la ingestión de una dosis que es letal para los individuos heterocigotos.

Cada uno de estos enfoques puede tener una aplicación útil en una situación específica. El manejo por moderación podría ser adecuado en un ambiente forestal. El manejo por saturación sería factible en invernaderos, graneros, o en aspersiones mezcladas con atrayentes, etc.

Cuadro 3. Principios del manejo de la resistencia por “moderación”, “saturación, y “ataque múltiple”. (de Georgiou 1983, con modificaciones)

1. Manejo de la resistencia por “moderación”

CONCEPTO: Los genes de susceptibilidad son un recurso valioso que debe conservarse al mismo tiempo que se tiene un control económico.

ESTRATEGIA: Presión de selección baja

TÁCTICAS:

1. Uso de dosis que no maten a todos los individuos SS
2. Uso de umbrales de densidad “altos” para iniciar las aplicaciones.
3. Aplicaciones poco frecuentes
4. Aplicaciones localizadas
5. Dejar algunas generaciones sin tratar
6. Uso de formulaciones de persistencia ambiental baja.

2. Manejo de la resistencia por “saturación”

CONCEPTO: Eliminar la ventaja selectiva de los individuos resistentes al saturar sus mecanismos de defensa

ESTRATEGIA: Hacer que los genes de resistencia sean funcionalmente recesivos

TÁCTICAS:

1. Uso de dosis altas que hagan que los genes de resistencia sean funcionalmente recesivos, es decir: $RS = SS$
2. Uso de sinergistas que bloqueen a las enzimas destoxificadoras, para eliminar la ventaja selectiva de los individuos RS y RR

3. Manejo de la resistencia por ataque “múltiple”

CONCEPTO: La selección multidireccional o en varios sitios de manera simultánea reduce el nivel de presión de selección que cada factor ejerce

ESTRATEGIA:	Mantener el grado de selección de cada insecticida abajo del nivel que conlleve a la resistencia
TÁCTICAS:	1. Mezclas de insecticidas 2. Rotación 3. Uso de insecticidas que seleccionan en varios sitios de acción

3. Manejo por ataque múltiple.

El manejo por ataque múltiple se basa en la premisa de que el control se puede alcanzar mediante la acción de varios factores que actúan de manera independiente, incluyendo a los insecticidas, donde cada uno ejerce una presión de selección que está abajo del nivel que puede conllevar al desarrollo de la resistencia. En un sentido amplio, este enfoque incluye la aplicación de insecticidas en mezcla o en rotaciones.

En el uso de mezclas se asume que los mecanismos de resistencia a cada insecticida en la mezcla existen inicialmente a una frecuencia tan baja que no ocurren juntos en ningún individuo en particular dentro de la población. Por lo tanto, el insecto que sobrevive a uno de los insecticidas en la mezcla es eliminado por el otro insecticida.

El uso de insecticidas en rotación se basa en el conocimiento de que los individuos resistentes tienen, en la mayoría de los casos, una capacidad biótica más baja que los individuos susceptibles. Por lo que su frecuencia tiende a decrecer cuando se usa el insecticida alterno.

Hemos evaluado el uso de insecticidas en rotaciones y en mezcla usando insecticidas representativos de tres clases diferentes: un organofosforado (temefós), un carbamato (propoxur) y un piretroide (permetrina). Razas de mosquitos que eran resistentes exclusivamente a uno u otro de estos insecticidas se cruzaron con una raza susceptible para asegurar que la población resultante tuviera en su genoma genes de resistencia a cada uno de estos compuestos en aproximadamente 2%. A esta población se le llamó

población sintética. La población sintética se dividió en varias subpoblaciones, y cada subpoblación se sometió a una presión de selección por cada uno de los insecticidas, en combinación o en rotación (Fig. 10).

Es conveniente señalar que para estos estudios se utilizó una población “cerrada” que contenía una frecuencia de genes de resistencia inicialmente alta. Además, la intensidad de la selección fue elevada (cerca del 90%) y no hubo inmigración de individuos susceptibles como ocurre bajo condiciones de campo. Por lo tanto, los resultados representan una tasa acelerada de la evolución de la resistencia comparado con lo que ocurre bajo condiciones de campo.

a. Mezclas de insecticidas. Los resultados que se obtuvieron con la selección por cada insecticida o cada mezcla en particular, se muestra en la Figura 11. Cada una de las tres subpoblaciones que se seleccionaron con un solo compuesto desarrolló resistencia a dicho compuesto pero no a los demás, confirmando que los genes de resistencia a cada compuesto efectivamente se incorporaron en la población. Los tres insecticidas provocaron el desarrollo de cierta resistencia a propoxur cuando eran parte de cualquier combinación. La mezcla de temefós y permetrina no indujo resistencia a ninguno de los tres compuestos.

Figura 10. Desarrollo de una raza sintética de *Culex quinquefasciatus*. A la raza sintética se le incorporó un 2% del genoma de las siguientes razas: OP-R (resistente a organofosforados), CARB-R (resistente a carbamatos) y PYR-R (resistente a piretroides).

b. Alternación de insecticidas. En estas pruebas, dos o más insecticidas se alternaron en generaciones sucesivas. El uso del diflubenzurón sirvió como “amortiguador” en algunas rotaciones. En investigaciones anteriores se observó que el diflubenzurón es un selector pobre de la resistencia en mosquitos. Como se muestra en la Figura 12, la resistencia a la permetrina alcanzó niveles muy altos en cada caso, pero estos niveles fueron un poco más bajos en las rotaciones donde la permetrina se aplicó de manera infrecuente.

Figura 11. Resistencia a temefós, propoxur y permetrina en razas de *Culex quinquefasciatus* seleccionadas con dichos insecticidas ya sea solos o en varias combinaciones. (de Georghiou 1983).

La resistencia a propoxur también evolucionó, pero la resistencia a temefós no lo hizo. También fue evidente que el propoxur ejerció una influencia positiva en la selección de resistencia a la permetrina (Fig. 12, B vx C) (Georghiou et al. 1983).

c. Uso secuencial de insecticidas. El resultado más interesante de esta investigación fue el de observar que la resistencia a organofosforados y piretroides pudo ser inhibida cuando cualesquiera de estos compuestos se usaron en secuencia. En contraste, la resistencia a carbamatos y piretroides se incrementó mutuamente cuando estos compuestos se usaron en secuencia. Se contrastan los resultados de la selección secuencial de permetrina-temefós-propoxur (Fig. 13) con los que se obtuvieron con la selección secuencial de permetrina-propoxur-temefós (Fig. 14). Es importante hacer notar que la resistencia a la permetrina decreció durante el periodo de selección con temefós (Fig. 13), pero se mantuvo cuando se seleccionó con propoxur, y bajó sólo cuando se introdujo el temefós (Fig. 14).

Como lo indiqué anteriormente, el uso de insecticidas en rotación o en secuencia descansa en la premisa de que la frecuencia de individuos resistentes baja durante las generaciones de la plaga en las que el insecticida en cuestión deja de usarse. Por lo tanto, la eficiencia del uso de insecticidas en forma alternada o en secuencia debe determinarse por la reducción en el nivel de resistencia que ocurre cuando un insecticida deja de usarse. En el presente estudio, cuando las tres subpoblaciones se seleccionaron con un solo insecticida y luego se retiró la presión de selección, ocurrió lo siguiente: la resistencia a temefós bajó de manera muy rápida, la resistencia a permetrina bajó de manera lenta, y la resistencia al propoxur bajó de manera muy lenta (Fig. 15) (Lagunes 1980).

Figura 12. Evolución comparativa de la resistencia a la permetrina, diflubenzurón, propoxur y temefós en razas de *Culex quinquefasciatus* seleccionadas con dos o más insecticidas en rotación (Adaptado de Georgiou et al. 1983).

Estos estudios de laboratorio sobre el manejo directo de la resistencia mediante el uso de mezclas, rotaciones y uso secuencial de insecticidas, revela la complejidad de este fenómeno. También indica que las tácticas prometedoras deben estudiarse con mayor profundidad. Existen buenas razones para pensar que se pueden desarrollar prácticas de

combate químico que sean sostenibles, a pesar de la fuerte propensión a la resistencia que es evidente en las poblaciones de organismos plaga.

Figura 13. Evolución comparativa de la resistencia a la permetrina, temefós y propoxur en una raza de *Culex quinquefasciatus* que se seleccionó en forma secuencial con dichos insecticidas.

Figura 14. Evolución comparativa de la resistencia a permetrina, propoxur, y temefós en una raza de *Culex quinquefasciatus* que se seleccionó secuencialmente con dichos insecticidas.

E. Biología molecular de la resistencia

En los últimos años se le ha puesto un interés especial en las esterasas como mecanismos de resistencia importante a insecticidas organofosforados en mosquitos y otras especies de artrópodos. Estamos intrigados por el grado de resistencia extremadamente alto que estas enzimas pueden conferir en el mosquito *Culex quinquefasciatus* (hasta 800x resistencia a temefós), así como nuestro hallazgo de que la resistencia puede existir a diferentes niveles de intensidad. Estudios posteriores demostraron que la enzima conocida como B1 está codificada por un locus (Georghiou et al 1980), y al revelarla por medio de la electroforesis se muestra como una mancha rojo-púrpura de intensidad fuerte debido a su capacidad para metabolizar el naftil acetato y producir naftol. Otras dos esterasas, conocidas como A2 y B2, también se descubrieron (Raymond et al. 1987) pero su contribución a la resistencia es mucho menor que la esterasa B1.

Figura 15. Incremento y decremento comparativo de la resistencia a temefós, permetrina y propoxur en tres razas de *Culex quinquefasciatus* seleccionadas por dichos insecticidas durante nueve generaciones y liberadas de la presión de selección respectiva.

Los aspectos moleculares de nuestro trabajo se llevaron a cabo en colaboración con científicos franceses de la Universidad de Montpellier (Dr. Nicole Pasteur) y del Instituto Nacional de Investigaciones Agronómicas de Antibes (doctores Claude Mouchés y Jean Bergé). En resumen, de este trabajo se obtuvo la clonación del gen que codifica por la esterasa B1 (Mouchés et al. 1986), la demostración de que dicho gen está amplificado por lo menos 250 veces en mosquitos altamente resistentes (Mouchés et al. 1987), de que la esterasa B1 representa del 6 al 12% de la cantidad total de proteína soluble en mosquitos resistentes (Cuadro 4) (Fournier et al. 1987). Estos resultados representan un avance muy importante en el conocimiento de la resistencia a insecticidas.

Cuadro 4. Propiedades de las esterases B1 y A1 involucradas en la resistencia a organofosforados en el complejo *Culex pipiens* en los Estados Unidos de América y Francia, respectivamente.

	Esterasa B1	Esterasa A1
Tamaño de la proteína esterática	67 Kda	120 Kda
Estructura	Monomérica	Dimérica
Proporción de la proteína esterática respecto a la proteína soluble total	6 – 12%	1 – 3%
Sobreprducción de la esterasa	cerca de 500 x	cerca de 70 x
Amplificación del gen que codifica a la esterasa	>250 x	
Nivel de resistencia que confiere	cerca de 800 x*	cerca de 10 x**

Mouchés et al. 1986, 1987. Fournier et al. 1987. *temefós; **clorpirifós

- La evidencia de la amplificación génica que aquí se discute clarifica algunas observaciones inexplicables respecto al incremento progresivo de la resistencia a insecticidas organofosforados en varias especies de insectos;
- La clonación del gen que codifica a la esterasa B1 posibilita el uso de sondas de ADN para identificar su relación con otras esterasas;
- El gen clonado se puede insertar en insectos benéficos como las abejas y los parasitoides, capacitándolos para sobrevivir en ambientes tratados;
- La evidencia de que la esterasa que confiere resistencia a organofosforados se sintetiza a niveles tan altos como para constituir del 6 al 12% de la proteína soluble total, pone de manifiesto la capacidad increíble de los organismos para adaptarse a una nueva sustancia química selectora.

CONCLUSIÓN

La resistencia a insecticidas representa un grave problema que necesita ser atendido con mayor énfasis y a un costo mayor. El abuso sistemático en el uso de insecticidas, muchas veces no intencional, es parte de los problemas que el ser humano tiene con su medio ambiente.

Existen nuevas posibilidades, que muestran un gran potencial de aplicación práctico para solucionar el problema de la resistencia.

LITERATURA CITADA

- Anonymous. 1985. A look at world pesticide markets. *Farm Chemicals*, 148:26-34.
- Braunholtz, J. T. 1981. Crop protection: The role of the chemical industry in an uncertain future. *Philos. Trans. R. Soc. London, Ser. B* 295:19-34.
- Conway, G. R. y H. N. Comins. 1979. Resistance to pesticides: lessons in strategy from mathematical models. *Span* 22:53-55.

- Forgash, A. J. 1985. Insecticide resistance in the Colorado potato beetle, pp 33-52. En: Fferro, D. N. y R. H. Voss, Proc. Symp. On Colorado potato beetle, XVII Int. Cong. Entomol. Mass. Exp. Sta. Research Bull. 704.
- Fournier, D., J. M. Bride, C. Mouchés, M. Raymond, M. Magnin, J. B. Bergé, N. Pasteur y G. P. Georghiou. 1987. Biochemical characterization of the esterases A1 and B1 associated with organophosphate resistance in the *Culex pipiens* L. complex. Pestic. Biochem. Physiol. 27:211-217.
- Georghiou, G. P. 1981. The occurrence of resistance to pesticides in arthropods: an index of cases reported through 1980. (Book) Food and Agriculture Organization of the United Nations, 172 pp.
- Georghiou, G. P. 1983. Management of resistance in arthropods, pp 769-792. En Pest Resistance to Pesticides. G. P. Georghiou y T. Saito, eds., New York, Plenum Publishing.
- Georghiou, G. P. 1986. The magnitude of the resistance problem, pp 14-43. En: Pesticide Resistance: strategies and tactics for management. Proc. Symposium on Management of Resistance to Pesticides. Nacional Acad. Sci., Washington, D.C.
- Georghiou, G. P. y N. Pasteur. 1987. Electrophoretic esterase patterns in insecticide-resistant and susceptible mosquitoes. J. Econ. Entomol. 71:201-205.
- Georghiou, G.P. y C.E. Taylor. 1976. Pesticide resistance as an evolutionary phenomenon. Proc. XV Internacional Congr. Entomol. Washington, D.C., pp 759-785.
- Georghiou, G.P. y C.E. Taylor 1977^a. Genetic and biological influences in the evolution insecticide resistance. J. Econ. Entomol. 70:319-23.
- Georghiou, G.P. y C.E. Taylor 1977^b. Operational influences in the evolution of insecticide resistance. J. Econ. Entomol. 70:653-58.
- Georghiou, G.P., A. Lagunes y J. D. Baker. 1983. Effect of insecticide rotations on evolution of resistance. Fifth International Congress of Pesticide Chemistry (IUPAC), Kyoto. J. Miyamoto et al., eds., Pergamon Press, pp. 183-89.
- Georghiou, G.P., N. Pasteur, y M.K. Hawley. 1980. Linkage relationships between organophosphate resistance and a highly active esterase-B in *Culex quinquefasciatus* from California. J. Econ. Entomol. 73:301-5.
- Knipling, E.F. y W. Klassen. 1984. Influence of insecticide use patterns on the development of resistance to insecticides: a theoretical study. Southwest. Entomol. 9:351-368.
- Lagunes, A.T. 1980. Impact of the use of mixtures and sequences of insecticides in the evolution of resistance in *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae), Ph. D. dissertation, U. of Calif., Riverside, 209 p.

- Melander, A.L. 1914. Can insects become resistant to sprays? J. Econ. Entomol. 7:167-173.
- Mouchés, C., M. Magnin, J.B., Bergé, M. de Silvestri, V. Beyssat, N. Pasteur y G.P. Georghiou. 1987. Overproduction of detoxifying esterases in organophosphate-resistant *Culex* mosquitoes and their presence in other insects. Proc. Nat. Acad. Sci. 84:2113-2116.
- Mouchés, C., N. Pasteur, J.B. Bergé, O. Hyrien, M. Raymond, B.R. de Saint Vincent, M. de Silvestri y G.P. Georghiou. 1986. Amplification of an esterase gene is responsible for insecticide resistance in a *Culex* mosquito from California. Science, 223:778-780.
- Muggleton, J. 1982. A model for the elimination of insecticide resistance using heterozygous disadvantage. Heredity 49:247-251.
- Pasteur, N. y G.P. Georghiou. 1981. Filter paper test for rapid determination of phenotypes with high esterase activity in organophosphate-resistant mosquitoes. Mosquito News 41:181-83.
- Pimentel, D., D. Andow, D. Gallahan, I. Schreiner, T. Thompson, R. Dyson-Hudson, S. Jacobson, M. Irish, S. Kroop. A. Moss, M. Shepard y B. Vinzant. 1979. Pesticides: environmental and social costs, pp. 99-158. En: Pest control: cultural and environmental aspects, D. Pimentel y J. H. Parking, eds. Boulder, Colo.: Westview.
- Raymond, M., N. Pasteur, G.P. Georghiou, R.B. Mellon, M.C. Wirth y M.K. Hawley. 1987. New detoxification esterases in organophosphate-resistant *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) from California, USA. J. Med Entomol. 24:24-27.
- Sutherst, R.W., G.A. Norton, N.D. Barlow, G.R. Conway, M. Birley, y H.N. Comins. 1979. An analysis of management strategies for cattle tick (*Boophilus microplus*) control in Australia. J. Appl. Ecol. 16:359-382.
- Taylor, C.E. y G.P. Georghiou. 1979. Suppression of insecticide resistance by alteration of gene dominance and migration. J. Econ. Entomol. 72:105-09.
- Taylor, C.E., F. Quaglia y G.P. Georghiou. 1983. Evolution of resistance to insecticides: a cage study on the influence of migration and insecticide decay rates. J. Econ. Entomol. 76:704-07.
- U.S.D.A. 1986. Detection and management of pesticide resistance. Report to U.S. Congress, 9 pp. (mimeo.).
- Whitten, M.J., y J.A. McKenzie. 1982. The genetic basis of pesticide resistance. Proc. 3rd Australasian Conf. Gras. Invert. Ecol., Adelaida (K.E. Lee, ed.). pp 1-17.

