

## BIOANALISIS DE LOS RESIDUOS DE VARIOS INSECTICIDAS EN TRES PLANTAS DE CULTIVO (\*)

Por **L. Jorge Burgos Uribe**

### I. INTRODUCCION

La efectividad de los insecticidas, y en particular de sus residuos tóxicos, en la práctica de la represión de plagas, es factor de relevada importancia dentro del desarrollo de la agricultura en Colombia y en especial en la zona del Valle del Cauca.

La represión de las plagas ha sido siempre un problema de sin igual importancia desde los puntos de vista de la economía y la producción, particularmente al tratarse de las plagas de los cultivos.

En igualdad de condiciones, un cultivo que crece invadido por las plagas y las enfermedades, naturalmente no podrá producir igual rendimiento que otro cultivo libre de ellas.

En corto tiempo una plantación puede ser invadida por una plaga de rápida y amplia distribución, que a más de los daños mediatos, intervenga como vectora de patógenos causantes de enfermedades que lleguen a devastar en su totalidad el cultivo. Por lo tanto hay que conocer cuándo debe aplicarse el tratamiento insecticida para lograr que sus efectos den los mejores resultados, dentro del margen más apreciable de economía.

Dada la acción tóxica de los residuos insecticidas que permanecen activos sobre las plantas después de cierto tiempo de aplicados, es por lo que se hace indispensable un registro que indique hasta qué punto el producto en mención cumple eficientemente con su oficio protector. Las condiciones ambientales hacen que el material tóxico de un insecticida, pierda gradualmente su potencialidad en las funciones que debe cumplir.

Este ha sido un problema tratado en muchas partes del mundo, donde los productos agrícolas juegan papel importante en el desenvolvimiento económico de los pueblos. Se han efectuado trabajos de esta índole en Norte América, Centro América y zonas de otros continentes, donde no se presentan las condiciones del trópico, quizás en su mayor intensidad, como en la línea ecuatorial donde está localizada Colombia. Sin estaciones climáticas definidas, dependiendo

(\*) Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de Ingeniero Agrónomo, bajo la presidencia del Dr. Adalberto Figueroa Potes, a quien el autor expresa su gratitud.

sólo de épocas húmedas y secas indeterminadas, cada una de las cuales puede ser de leve o rigurosa intensidad, los estudios realizados sobre este tema serían de relativa aplicación.

Con base en tales conceptos, se han planeado una serie de experimentaciones para evaluar la práctica de la represión de plagas en tres plantas de cultivo de importancia en el Valle como son maíz, frijol y tomate, en cada una de las cuales se presentan plagas que producen detrimento en la productividad de los cultivos, por los daños que causan en los órganos vitales de las plantas.

La mira principal del presente trabajo es evaluar la toxicidad de los depósitos de insecticidas, en las plantas bajo condiciones de medio ambiente en el trópico, y así atender en cada caso a la dosis adecuada de producto químico y a la periodicidad en su aplicación.

Este estudio se verificó por medio de bioanálisis, tomando como probador al camarón de la salmuera, *Artemia salina*, siguiendo el método establecido por Michael, Thompson y Abramovitz (40).

Las experimentaciones se llevaron a efecto en la Sección de Química de la Estación Agrícola Experimental de Palmira y en la Facultad de Agronomía del Valle.

## II. REVISION DE LITERATURA

En todas las últimas publicaciones de trabajos realizados sobre la acción residual tóxica de insecticidas, ya sea en la represión de plagas endémicas o en represión de plagas en agricultura, la literatura se refiere a experimentaciones comprobadas por diferentes métodos de análisis, ya sean químicos, biológicos, físicos, y combinaciones de ellos.

A) **Métodos químicos.**— Entre estos se encuentra el efectuado por Averell (4), para hallar pequeñas cantidades de Parathion, comercialmente Thiophos 3422, después de su aplicación por espolvoreo o aspersión. Como extractivo de residuos tóxicos usó benceno y para obviar la turbidez debido a presencia de ceras usó arcillas attapulgus. Como reactivo usó Naftil-etilenodiamina. Otros experimentadores que usaron también el benceno para el lavado de residuos insecticidas en las hojas, fueron: Satyanarayana (44), Decker et al. (14), Ginsburg (25), Carter (12), y Hartzell y Storrs (28).

Decker (14), en sus experimentaciones usó un método fisico-químico por reacciones orgánicas y colorimetría. Los lavados del material por examinar los hizo con n-hexano, tal como Burchfield, Hilchey y Storrs (9). Siguió los procedimientos determinados por Stepanov con variaciones según Fleck, Umhoefer y Caldwell. La determinación del Cloro orgánico la realizó convirtiéndolo en ion Cl, según el método de Volhard.

Los residuos de Parathion se analizaron colorimétricamente según Averell y Norris, reduciéndolo con Zn en un compuesto amino,

añadiendo luego un reactivo para producir color magenta, comparando con colorímetro Coleman (Decker et al., 14).

Ginsburg, Filmer y Reed (25) y Leyland (36), usaron métodos colorimétricos; éste último hace notar el uso del colorímetro para determinaciones de Aldrin. Carter (12), indica los métodos colorimétricos y espectrofotométrico en análisis de insecticidas, decolorando impurezas con ácido sulfúrico en el caso del DDT y tratando con potasa alcohólica cuando es Dieldrin o Aldrin.

**B) Métodos Físicos.** Entre estos está el descrito por Keiser y Henderson (34), cuando se toman grandes cantidades de follaje como muestras, para determinar en partes por millón la cantidad de residuos de insecticidas, valiéndose de diferencias de peso. En otro método, por medio del espectroscopio infrarrojo, se pueden determinar, según Garhart, cantidades tóxicas mínimas (Leyland, 36).

**C) Métodos biológicos.** De estos se han experimentado varios. Entre los primeros investigadores que hicieron uso de ellos está Gersdorff (24), quien en 1934 utilizó pequeños peces dorados para probar los efectos de la temperatura en la toxicidad de la rotenona y el fenol.

Con *Anopheles gambiae*, Kartman y da Silveira (33), en 1946 realizó pruebas en relación con la toxicidad y la mortalidad a la acción de residuos de DDT, usando hembras del mosquito.

Otro insecto de mucho interés para pruebas de este orden, es la mosca casera, *Musca domestica* L., utilizada primero por Lindquist et al. (37), en 1946 y luego por Hoffman y Lindquist (30) y Dahm y Pankaskie (13) en 1949, comparando generalmente abatimiento y mortalidad de los insectos.

En 1952 otros investigadores probaron también la mosca casera en análisis de toxicidad de productos químicos, como Nagasawa (41), quien estableció diferencia de susceptibilidad en los adultos del insecto, especialmente en las hembras. Sun y Tung (48), desarrollaron su método con base en que los residuos que tienen la misma cantidad del mismo tóxico, pueden dar igual porcentaje de mortalidad, probando con depósitos secos.

Tung y Sun (49), en 1953 usaron el citado insecto para estudiar toxicidad por muestras de residuos de insecticidas en la leche, comparando la mortalidad de las moscas en muestras tratadas, con mortalidades standards por preparados con cantidades conocidas del mismo tóxico.

Con individuos del picudo del algodónero, ya sea criados en el laboratorio o recogidos en el campo, se hicieron pruebas de reconocimiento de residuos de insecticidas, habiendo mostrado mayor susceptibilidad los primeros. (Gaines y Dean, 21).

Un insecto muy usado también en esta forma de experimentación biológica es el *Aedes aegypti* (L.) Quien primero usó este in-

secto en su estado larvario fueron Hartzell y Storrs (28) en 1950, analizando alimentos procesados. En 1951 Waites (52), probó treinta y siete compuestos químicos con hembras de diez días de nacidas. Luego en 1952, Burchfield, Hillchey y Storrs (9), utilizaron esta larva desarrollando el método de fotomigración, aprovechando la tendencia de ella a moverse lejos de una intensa fuente de luz. En 1953 el mismo autor (10), descubrió resistencia a tóxicos, entre mayor edad e instar de la larva.

Utilizando hembras adultas de algunos días de nacidos y alimentadas con sangre, Hadaway y Barlow (27), analizaron la toxicidad residual de insecticidas sobre diferentes materiales. Burchfield y Hartzell (8) en 1955, utilizaron de nuevo la larva del *Aedes aegypti* en la estimación de extractos de productos alimenticios contaminados.

La mosquita de las frutas, *Drosophila melanogaster* Meig., ha sido especialmente utilizada como insecto probador en bioanálisis. Así, por ejemplo, Bartlett (5), da a este insecto mérito considerable en la evaluación de insecticidas, especialmente en la prueba por contacto según Morrison, con alguna variación del citado autor (5).

Knutson (35) se valió de la línea salvaje y de otra isogénica innata de la salvaje, experimentando comparativamente con hembras y machos, por contacto en vasijas impregnadas con el tóxico.

Goldsmith y Harnly usaron las larvas de moscas de fenotipos ébano, fuliginoso, negro y salvaje (Knutson, 35). En la práctica de adormecimiento de las moscas para manejarlas, L'Heritier y Teissier encontraron que la de ébano no se reponía a la acción del dióxido de carbono a cierta temperatura, mientras otras líneas sí (Knutson, 35). Este mismo autor (35), cita las pruebas realizadas por Berg con una línea suiza de una semana de nacidas, y por Weiner y Crow con moscas de cuatro días, y anota mayor mortalidad en machos que en hembras. Mc Donough (38), usó ortofenilfenate para evitar contaminación con moho en el alimento del insecto. Sun y Pankaskie (47), sugirieron el uso de la *Drosophila*, cuando en la determinación de pequeñas cantidades de un tóxico, no es suficiente la mosca casera, aduciendo mayor sensibilidad, tanto como la de la larva del mosquito de la fiebre amarilla.

Viale (51), utilizó en sus pruebas, moscas *Drosophila* de alas vestigiales, asignándole también alta sensibilidad, facilidad de cría y manejo.

Fleming, Coles y Maines (20) en 1951, utilizaron el *Macrocentrus ancylivorus* Roh. en pruebas de residuos de Clordano y DDT en el suelo.

Entre los trabajos realizados sobre *Tribolium confusum* se cuentan, los efectuados por Wilcoxon (55) y Satyanarayana (44). El primero en 1946, usó dos preparaciones de DDT para hacer una comparación de efectividad de dos concentraciones, en diferente tiempo y localidad. El segundo en 1952, usó condiciones de medio ambiente correlacionadas, para probar la actividad biológica.

Con las larvas de *Laphygma frugiperda* en su quinto estadio, se realizaron en 1955, experimentaciones acerca del efecto residual de ciertos insecticidas aplicados sobre maíz (Pfaeffle, 42).

Finalmente, dentro de los medios encontrados de utilidad para análisis biológicos, se encuentra el del camarón de la salmuera, crustáceo denominado *Artemia salina*, del cual se tiene el dato de Michael et al. (40), de ser superior a muchos otros organismos en cuanto a cría y mantenimiento, a más de poseer alta sensibilidad a un amplio número de compuestos y notable fototaxia usable con criterio fisiológico.

Este organismo ha sido estudiado por varios autores entre los que están Kuenen (Michael et al., 40), Fautrez (19), Brown y Stephens (7), Eliassen (18), Dempster (16) y otros. Dempster (16), indica que colectando los huevos del camarón, procesándolos especialmente y colocándolos en aguasal a 24°C, eclosionan en larvas nadadoras que son ideales como alimento natural para peces tropicales en acuario.

Hinton (29), anota la gran resistencia de los huevos del camarón, a elevadas temperaturas. La eclosión de huevos colocados a 103°C., durante 1 hora fue el 91% de la eclosión de los huevos colocados a 25°C. Algunos huevos eclosionan a los veintiocho días después de exponerlos a 103°C. durante dos horas.

El *Artemia salina* puede encontrarse en los lagos alcalinos con aguas de pH9, donde prosperan formas marítimas de los grupos Protozoa, Rotífera, Phyllópoda y Cladocera (Yamasaky, 56).

Conocidas algunas de las cualidades que presenta el *Artemia salina* para experiencias acerca de la toxicidad de productos químicos, se ha tomado como medio de registro de residuos de insecticidas en el presente trabajo.

Después de una revisión de los diferentes métodos que muchos experimentadores han desarrollado en la determinación de sustancias tóxicas, es preciso conocer el alcance de los muchos trabajos realizados, lo que será base para nuestro propósito.

Primero que todo, se deben tener en cuenta los factores climáticos y las condiciones de campo bajo los cuales se va a efectuar la aplicación de los insecticidas, factores todos, decisivos de la toxicidad residual. Así, se tendrá los efectos que se observarán por la presencia de:

A) **Temperatura.** Gersdorff (24) estudió la acción de los cambios de temperatura sobre rotenona y fenol, concluyendo que la resistencia sólo es afectada por los cambios de temperatura, pero que la toxicidad relativa está en función del compuesto químico y permanece la misma a cualquier nivel dentro de una categoría de temperaturas. Hoffman y Lindquist (30), experimentando en 1949 con moscas domésticas, determinó mayor abatimiento y mortalidad con hidrocarburos clorinados a la más baja temperatura, habiéndolas co-

locado primero a 21°C y luego a 32°C. Estos insecticidas eran DDD, DDT y Metoxyclor; lo contrario sucedió con Heptaclor, Parathion, Clordano, Dieldrin y Toxafeno.

Dustan (17) mostró que la mortalidad, por contacto y acción estomacal del DDT decrecía constantemente, a medida que la temperatura aumentaba de 14°C a 32°C.

A bajas temperaturas, 10 a 21°C, los depósitos aplicados en suspensión, pierden una tercera parte en treinta y siete días sobre hojas y vidrios, cuando la dosis inicial fue de 2 mg. por cm.<sup>2</sup> A altas temperaturas, 15 a 35°C, los depósitos desaparecieron más rápidamente, y más del vidrio que de las hojas. (Ward y Burt, 53).

Según Gaines y Dean (22), la toxicidad de ciertos materiales aumentó con alta temperatura y en aspersiones; Toxafeno y Toxafeno-DDT, fueron más efectivas que el polvo de Toxafeno. DDT, Pyretrum y Lindano fueron más tóxicos, y Aldrin y Dieldrin menos tóxicos a baja temperatura. El DDT se mostró 20 veces más efectivo a la baja temperatura y Dieldrin, y Aldrin y Lindano, 5 veces el primero y 3 los segundos, tanto en uno como en otro extremo.

**B) Luz.** Las aplicaciones pueden también ser afectadas por la luz. Por ejemplo las de DDT, ya sea emulsionable o en suspensiones sobre cajas de Petri, tablas y cristal; unas, expuestas a la luz ultravioleta y al sol y otras no. Se no tó bastante reducción de la actividad en casos como el de abatimiento de moscas domésticas. Con solventes de alto punto de ebullición, esta reducción fue severa. Las emulsiones de xylene y las suspensiones acuosas fueron menos afectadas por la luz, que las soluciones. (Lindquist et al., 37).

La luz solar, como las altas temperaturas, pueden debilitar los residuos de las aspersiones. La exposición al sol durante cuatro horas reduce la toxicidad del Toxafeno en 20% (Gaines y Dean, 21).

Aspersiones de Toxafeno con DDT, Toxafeno asperjado y en espolvoreo, redujeron su toxicidad a la acción del sol, permaneciendo más tóxicas las aspersiones que el polvo en Toxafeno, y las aspersiones o el polvo de BHC (Gaines y Dean, 22).

**C) Humedad.** En pruebas a temperatura constante, la alta humedad redujo la toxicidad del Parathion, del Toxafeno del 20% y Clordano del 20% (Gaines y Dean, 21). La rata de desaparición de partículas de las superficies de varios cuerpos, descendió a medida que aumentó la humedad relativa (Hadaway, 27).

Desde que la temperatura no varíe mucho, se asume que los fenómenos climáticos de brillo solar, humedad relativa, rocío o viento y lluvias, sólo o combinados, reducen la toxicidad en Toxafeno, Dieldrin y Aldrin.

**D Agua.** El rocío y las precipitaciones pluviométricas lavan los depósitos tóxicos sobre las plantas. La aplicación de 12,7 mm. de lluvia simulada, redujo la toxicidad de formulaciones aspersionables

hasta cierto punto, pero las formulaciones espolvoreables fueron tan reducidas que se hicieron inefectivas (Gaines y Mistic, 23).

Además de los factores anteriormente enunciados, es de especial importancia la concentración del insecticida en el momento de su aplicación en el campo. Wilcoxon (55), encontró mayor resistencia, en concentraciones mayores del insecticida.

En concentraciones de 1 kg. por 750 lts. de agua, hay completa ausencia del DDT después de las dos semanas de la aplicación, lo que indica que éste se pierde o se descompone (Decker, 15). En cambio Mc Kelvey y Parker (39), anotan que el DDT no pierde rápidamente su fuerza por descomposición, puesto que en presencia de ciertas sales metálicas, un átomo de hidrógeno y uno de cloro, dejan la molécula del DDT para formar ácido clorhídrico, lo que hace que la molécula quede inerte. Otros materiales fuertemente alcalinos sí destruyen el DDT.

Muestras de ratas comparativas de pérdidas de depósitos en p.p.m. de DDT sobre hojas y cristal, indicaron que la causa principal de pérdidas es la volatilidad, ya que la pérdida por penetración foliar es muy pequeña para ser de consideración (Ward y Burt, 53). El mismo autor (53), determinó que para mayor persistencia, el insecticida debe usarse a su máxima dosis práctica, ya que a la dosis más baja a que el DDT se aplica, es mayor el porcentaje de pérdida en un período dado.

Aplicaciones de la misma cantidad de DDT en distintas áreas, dieron mayor mortalidad se hizo la aplicación en la menor área. Algunos diluyentes usados en aspersiones de DDT en polvo, muestran que agregados al agua y asperjados sobre las superficies, varían en la cantidad de residuos depositados (Turner y Woodruff, 50).

En las aplicaciones de insecticidas, el tamaño de la partícula interviene también en el grado de toxicidad. El tamaño de la partícula reduce su influjo a medida que la toxicidad aumenta. Aldrin, Dieldrin, BHC y DDT sobre bloques de barro, argamasa, madera, vidrio y otros, denotaron relación inversa entre el tamaño de las partículas y la toxicidad. El orden descendente de toxicidad inicial fue: Dieldrin, BHC, Aldrin y DDT. El orden descendente en persistencia para cualquier tamaño de partícula fue: DDT, Dieldrin, BHC y Aldrin. (Hadaway, 27).

En resumen, los depósitos de insecticidas son con frecuencia afectados por las diferencias en formulaciones y la toxicidad es proporcional a la concentración. (Decker et al., 14; Satynarayana, 44).

Los residuos de los insecticidas pueden encontrarse en la planta, tanto en el follaje como en los frutos.

Los excesos de residuos a tolerancia son menores, cuando no se aplica adherente y no se asperja durante las cuatro semanas que precedente a la cosecha. Así, por ejemplo, dice Decker (15), las aspersiones con 1 kg. de DDT por 750 lts. de agua no darán exceso de residuos a tolerancia.

En el follaje de las plantas se han encontrado diversas cantidades de depósitos de insecticidas. Usando polvo de Malathion del 4%

a razón de 15 kg. por acre (4.047 ms.<sup>2</sup>), aspersiones de Malathion mojable del 25% ó emulsionable del 50% a razón de 100 gals. por acre (378 lts./4.047 ms.<sup>2</sup>), con dosis de 1,2 - 0,5 y 1,0 lbs. (0,6-0, 25-0,5 kg.) para polvo, polvo mojable y emulsión respectivamente, se encontraron en lechuga residuos menores de 1,0 p.p.m. a los seis días.

Después de quince días de aplicado el DDT en tomate, las determinaciones para cloro orgánico mostraron 0,6 y 0,2 p.p.m., para DDT en polvo del 3 y 5%, y de Ferbam asperjado, 1 p.p.m. (Weigel, 54).

En maíz tratado contra el perforador europeo con DDT al 2,5%, se encontraron en tallos y en hojas 1,88 p.p.m. y en granos 1,5 p.p.m., después de cuatro aplicaciones. En ensilaje de maíz de diez días después de la tercera aplicación de polvo de DDT y del 5% en la dosis de 25 kg. por hectárea, se encontraron 4 p.p.m. (Decker, 15).

Maíz espolvoreado cinco veces con DDT al 3% y cosechado trece días después de la última aplicación, contenía 13 p.p.m. de residuo tóxico. Con TDE al 5%, se encontraron 203 p.p.m., siendo la lluvia de sólo 25 mm.; lo que significa que en ausencia de lluvia, grandes cantidades de TDE y DDT pueden ser retenidas como residuos, al tiempo de la cosecha. (Gainsburg et al., 25).

Generalmente los residuos de insecticidas de espolvoreo en vegetales lavados son bajos, y altos los de los polvos mojables (Smith, Giang y Taylor, 46).

Como se anotó anteriormente, también en los frutos es dado encontrar residuos tóxicos debido a las varias aplicaciones del insecticida y otras veces porque se agrega algún adherente.

En tomate, tratado con Malathion aerosol de 10%, se encontraron depósitos de 0,3 a 0,4 p.p.m., en frutos, desapareciendo completamente al tercer día. En cebolla desapareció rápidamente. (Smith, Giang y Fulton, 45).

Watkins dice hallar residuos de DDT en polvo del 3%, de 7 p.p.m. después de dos o tres aplicaciones, cuando las partes permisibles solamente es 1,0. Hay registros indicando residuos menores de 7 p.p.m. en manzanas asperjadas de cuatro a siete veces con DDT en dosis de 250 gr. hasta 0,5 kg. en 378 lts. de agua. (Decker, 15).

Hoskins (31), anota que en frutas, puede encontrarse DDT, DDD y Metoxyclor, bajo 7 p.p.m., después de un mes de la aplicación. Párec que el aceite característico de muchas cortezas ayuda a mantener elevado el nivel de residuos; puesto que generalmente el Parathion desaparece rápidamente, excepto en frutas con mucho aceite. El secado aumenta la relativa cantidad de tóxico en frutas y el DDT es suficientemente volátil para contaminar pasas almacenadas en cajas, asperjadas de antemano en otro lugar.

Sun y Pankaskie (47), llegaron a determinar por medio de la *Drosophila*, 0,1 p.p.m. de Aldrin y Dieldrin en tejidos macerados de frutos y vegetales.

En alimentos procesados, frijoles, manzanas, albaricoques, llegan a encontrarse también residuos tóxicos. En estos productos se analizaron biológicamente diez insecticidas que en combinación con tejidos vegetales mostraron inhibida toxicidad. Los insecticidas probados fueron: Lindano, Heptaclor, Aldrin, Dieldrin, Clordano, BNP, BNB, Metoxyclor, Rothane y Toxafeno. (Hartzell y Storrs, 28).

En otros productos, como la leche, se pueden encontrar residuos de insecticidas, debido a la ingestión de éstos por los animales. En un estudio sobre muestras de toxicidad en leche, Tung y Sun (49), experimentaron con *Musca domestica*. Por el método de soluciones probadoras, llegaron a evaluar 0,1 p.p.m. de Aldrin y Dieldrin; 0,2 p.p.m. de Lindano; 0,5 p.p.m. de Isodrin y Endrin, y 1,4 p.p.m. de DDT.

En leche y grasas se examinaron trazas de Metoxyclor por colorimetría (Anónimo, 3). En mantequilla que contenía trazas de insecticidas clorinados, DDT, TDE, Lindano, Metoxyclor, Clordano y Toxafeno, fueron detectados los residuos por medio de larvas de *Aedes aegypti*. En las pruebas con grasa de carne, tratada con ácido sulfúrico, puede determinarse el tóxico en bioanálisis usando la larva del *Anopheles quadrimaculatus*. (Bushland, 11).

En determinación de cantidades mínimas de compuestos sistémicos forforados, aparentemente metabolizados por las plantas a compuestos más tóxicos que el original, se usó el método de inhibición de la colinesterasa (Anónimo, 3; Carter, 12).

De todos los insecticidas comunmente usados en el campo, Aldrin y Dieldrin son considerados como los más potentes. Bajo 25 p.p.m., límite de importancia por riesgo para humanos, ningún insecticida de los anteriores tiene evidente efecto deletéreo. (Princi, 43).

Cuando desde 1945 el DDT se usó como insecticida para todos los usos, junto con otros compuestos, han aparecido síntomas nuevos en animales y hombres. La casi total contaminación de las dietas con hidrocarburos clorinados, ha hecho que estos se almacenen en la grasa del cuerpo. Pueden causar serios disturbios en el metabolismo celular, aumentando el desarrollo de enfermedades degenerativas y la susceptibilidad a agentes infectivos. También se ha notado aumento de resistencia en ciertas líneas de insectos. Se pueden acumular y persistir como veneno en el suelo. (Biskind, 6).

Se han encontrado DDT y BHC en tejidos de pollos perchados donde se asperjó con los insecticidas (Hoskins, 31).

Por último, se debe hacer una mención en lo referente a mezclas, ya sea de insecticidas entre sí, o con fungicidas.

Está el Malathion que puede mezclarse con DDT, Arseniato de Pb., Metoxyclor, Aceite mineral, Parathion, TDE, Ferbam, Crag 341, Captan, Sulfato tribásico de Cu, Azufre, Zineb y Zirane. No hubo en estos casos efectos tóxicos sobre las plantas ni disminución de la

eficacia. Cuando se adicionan fungicidas o insecticidas alcalinos, el efecto insecticida inicial es satisfactorio, pero la duración del efecto puede disminuir. El residuo de Malathion es menor a 1,0 p.p.m. después de los diez días de la última aplicación. (Anónimo, 1).

La adición de caldo bordelés y óxido de cobre, no afectan la tenacidad. Pruebas de ésta, en residuos de diluyentes, asperjados sobre cristal, mostraron que la Pirofilita tiene relativa baja tenacidad y no parece ser afectada por el tamaño del depósito. Los diluyentes de baja tenacidad no se lavan, ni remueven el DDT. Los mejores repelentes corresponden generalmente a una mayor viscosidad y tensión superficial en los productos químicos. (Waites, 52; Turner y Woodruff, 50).

### III. MATERIALES Y METODOS

#### A) MATERIALES

**Insecticidas.**— Se tomaron los siguientes, en cada uno de los cultivos y según las dosis comerciales de aplicación:

1.— **En maíz:** Toxafeno emulsionable del 50%, en la dosis de 2 kg. de producto activo por hectárea.

Aldrin emulsionable del 25%, en la dosis de 0,5 kg. de ingrediente activo por Ha.

Heptaclor emulsionable del 25%, en la dosis de 0,5 kg. de producto activo por Ha.

2.— **En frijol:** DDT polvo mojable del 50%, en la dosis de 1,5 kg. de producto activo por hectárea.

Parathion emulsionable del 46%, en la dosis de 0,25 kg., de producto activo por Ha.

Endrin emulsionable del 18,5% en la dosis de 0,25 kg. de producto activo por aH.

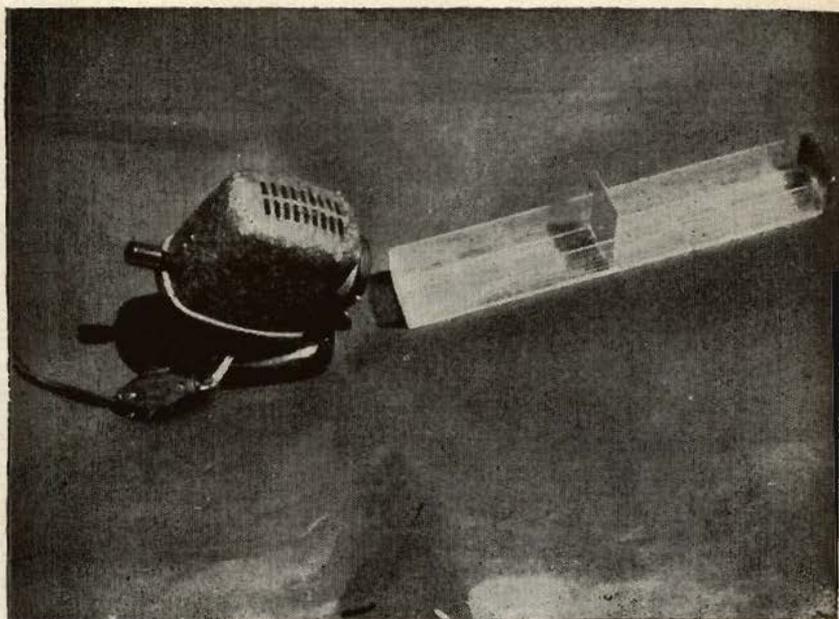
3.— **En tomate:** Endrin y Aldrin de las mismas concentraciones y en iguales dosificaciones, que para maíz y frijol.

Malathion emulsionable del 50%, en la dosis de 2 kg. de producto activo por Ha.

Como diluyente se usó agua, en cantidad de 400 lts. por hectárea.

**Asperjadora.**— Se usó una de marca Calimax N° 1 de 12 litros.

**Parcelas.**— De cada uno de los tres cultivos. De diez metros de longitud y tres surcos cada una, usando el sistema de siembra comercial y con una replicación.



**Figura 1.**— El aparato de fotomigración empleado en las pruebas de análisis biológico. Foto: A. Ruiz.

**Sacabocados.**— De tubo de cristal de 1 cm. de diámetro, con borde cortante para tomar muestras de igual área en las hojas de las plantas.

**Aparato de fotomigración.**— Consistente en una cubeta de cristal de forma rectangular, de 40 cms. de longitud por 4 cms. de altura y 4 cms. de ancho. Con un tabique en cristal esmerilado colocado a los 15 cms. de un extremo. Lámpara eléctrica para proyección de un haz de luz de 100 vatios. Figura 1.

**Salmuera.**— **Solución** salina para la cría del crustáceo, con la siguiente fórmula:

Cloruro de sodio	30	gr.
Sulfato de calcio	2	gr.
Sulfato de magnesio	3	gr.
Cloruro de magnesio	8,5	gr.
Cloruro de potasio	0,8	gr.
Bromuro de magnesio	0,1	gr.
Agua destilada	1.000	c.c.

La solución preparada se ajustó a un pH 10 con Hidróxido de sodio.

**Vasos de cristal.**— De los de precipitados, para mantener el camarón en su medio.

**Levadura.**— Pura, para alimento del crustáceo, diluyéndola en agua y dando unas pocas gotas cada dos días.

**Soluciones testigos.**— De cada insecticida para las pruebas de comparación, con tres niveles distintos de toxicidad a saber: 2, 1, y 0,5 p.p.m. Se mantuvieron en frascos color ámbar, de 250 c.c. Estas soluciones se hicieron en la salmuera del medio de cría.

**Camarones.**— Se escogieron dentro de la mayor uniformidad tanto por tamaño como por edad. De diez días de nacidos, con once pares de aletas desarrolladas y presentando la mayor movilidad. El *Artemia salina* es considerablemente móvil. Con unos quince pares de aletas, en su estado adulto, en forma de remos a lo largo de sus costados desde la cabeza hasta el nacimiento de la cola. Estas aletas son en sí los órganos de locomoción, a manera de pseudópodos. La cabeza presenta un par de ojos prominentes, situados a cada lado de la frente a manera de apéndices. Además, sobre cada ojo, tiene un verdadero apéndice a modo de antena. La cola, de ocho segmentos, presenta en su base un ensanchamiento a manera de bolsa, poco prominente en el macho y muy desarrollado en la hembra.

Esta parece guardar allí sus huevos y en ambos géneros allí queda situado el abdomen. El extremo de la cola es semi-agudo con una entrante apical que forma el ano y a cada lado sendos mechones de flagelo rígidos o cercos. Cuando pequeños presentan coloración rosada, la que se va aclarando gradualmente hasta ser pardo muy claro con paredes hialinas. Posteriormente se tornan pardo verdoso, y algunos, especialmente los machos, pueden ser de color verde azulado. Estos presentan como característicos, un par de mechones en la parte inferior de la cabeza, a manera de barbas.

Cuando recién nacidos tienen aproximadamente 500 micras y a los diez días, miden de 3 a 3,5 mm.

## B) METODOS

Se siguió el método enunciado por Michael et al. (40) aprovechando la pronunciada fototaxia del *Artemia salina* ante una inmensa fuente de luz.

**Obtención de las muestras.**— Habiéndose aplicado los insecticidas sobre las plantas, en las dosis comerciales usuales, se procedió a tomar las muestras de hojas impregnadas con el producto químico, teniendo en cuenta la misma planta en todos los casos, y la misma región en el follaje.

Tanto en las parcelas originales como en las replicaciones, se escogieron dos plantas; de cada una se tomaron porciones de hojas con áreas standards de cada ocasión. Las muestras se guardaron en cajas de Petri estériles y se llevaron al laboratorio.

La primera muestra fue tomada a las 48 horas de aplicado el insecticida y se siguieron tomando con el mismo lapso por seis veces consecutivas.

**Lavado de depósitos.**— Ya en el laboratorio las muestras se lavaron con acetona, siguiendo la técnica propuesta, para quitar todos los residuos del insecticida. Estas soluciones se suspendieron en salmuera del medio de cría del camarón, completando hasta 50 c. c. cada una. Se tuvieron en tubos, listas para el análisis.

**Soluciones testigos.**— Se usaron como medio para evaluar cantidades de residuos tóxicos. Se prepararon de la siguiente manera: Se pesó 1 gr. de producto activo de cada insecticida, sabiendo su concentración inicial. Este se diluyó en 100 c.c. De esta dilución se tomó 1 c.c. para diluir en 1 litro. 1 c.c. de la anterior dilución se diluyó a su vez en 10 c.c. y se obtuvo así 1 p.p.m. del insecticida diluido. Siempre se usó salmuera para diluir, y las muestras se llevaron hasta 50 c.c., guardándolas en frascos color ámbar, en concentraciones de 2,1, y 0,5 p.p.m.

**Análisis biológico.**— Se tomaron cada vez grupos de cincuenta camarones, hasta la cuarta prueba; en las restantes se tomaron grupos de veinticinco.

Se colocó cada dilución de residuos lavados con acetona, dentro de la cubeta de cristal y se colocaron en ella los camarones, retenidos por el tabique divisorio en la sección más pequeña. Se tomó como unidad de tiempo, 1 minuto, durante el cual el *Artemia salina* soportó la toxicidad de las diferentes diluciones. Pasado el minuto establecido, se encendió la lámpara eléctrica colocada en el extremo opuesto a los camarones, a pocos centímetros de la cubeta, y se levantó el tabique para dar paso a los organismos de prueba, hacia el foco de luz.

La mortalidad de los camarones se contabilizó, según el porcentaje de cada grupo expuesto a la acción del insecticida, que mostraran, ya sea muerte, o paralización más o menos fuerte; esto es, que no mostraran reacción ante el estímulo de la fuente de luz.

Tanto en las diluciones de las muestras originales como en las de las replicaciones, se presentaron los porcentajes de mortalidad que se dan en la tabla I, para los insecticidas en las varias tomas y para cada uno de los cultivos.

En las figuras 2 y 3, se pueden observar gráficamente los resultados obtenidos en la evaluación de los residuos de los insecticidas, en las muestras de hojas de las plantas, según las diversas mortalidades del organismo de prueba en los varios tiempos tomados, posteriores al tratamiento con el producto químico.

En las pruebas de toxicidad con las soluciones testigos, se encontraron los datos que se observan en la Tabla II.

Comparando con los resultados de la Tabla II, podemos evaluar en p.p.m., los datos de las figuras 2 y 3 de depósitos tóxicos en cada toma de las muestras en el campo.

— T A B L A I —

Porcentajes de mortalidad del *Artemia salina*, por acción tóxica de residuos de insecticidas en tres cultivos, durante seis pruebas con 48 horas de intervalo

Prueba	M a í z			F r i j o l			T o m a t e		
	Toxafeno	Aldrin	Heptaclor	DDT	Parathion	Endrin	Endrin	Aldrin	Malathion
1	80	91	85	90	75	70	80	70	85
2	50	80	60	63	65	40	57	45	50
3	36	45	30	40	25	20	24	32	40
4	30	18	13	20	14	10	10	15	20
5	20	3	6	10	9	3	5	7	6
6	10	—(+)	4	8	8	3	—(+)	2	—(+)
Promedio	41%	47.8	33	38.1	32.1	24.3	35.2	28.6	40.2

(+) Muestras perdidas.

## — T A B L A I I —

Registro de porcentajes de mortalidad de *Artemia salina*, por acción de toxicidad de insecticidas en tres niveles de p.p.m., durante 1 minuto, como pruebas de comparación.

Insecticida	p.p.m. del testigo	Porcentaje de mortalidad
Toxafeno	2,0	24
	1,0	20
	0,5	16
Aldrin	2,0	24
	1,0	16
	0,5	8
Heptaclor	2,0	24
	1,0	20
	0,5	16
DDT	2,0	32
	1,0	20
	0,5	8
Parathion	2,0	20
	1,0	16
	0,5	12
Endrin	2,0	26
	1,0	16
	0,5	9
Malathion	2,0	28
	1,0	16
	0,5	8

## IV. RESULTADOS Y DISCUSION

Teniendo como referencias la Tabla I y las figuras 2 y 3, se pueden interpretar los distintos datos para evaluar el comportamiento de los insecticidas que se usaron, aplicados sobre maíz, frijol y tomate en el campo, bajo las condiciones climáticas, propias del trópico, que se verán a continuación:

	Máximo	Mínimo	Promedio
Brillo solar	9-50	0-45	5-55 (horas/día)
Temperatura	32,5°C	16,0°C	23,5°C
Humedad relativa	82,3	66,0	72,38
Lluvias en mm.	37,5	0,10	11,15

Los datos de los factores climáticos se empezaron a registrar desde el día de iniciado el tratamiento, hasta el día de la última prueba de análisis.

En primer término, se tiene la toxicidad residual que presentan los insecticidas aplicados sobre maíz:

**Toxafeno.**— Presenta alta toxicidad inicial sobre el probador, provocando 80% de mortalidad. Denota un fuerte descenso en este porcentaje, entre la primera y la segunda prueba. En el tercer análisis, cuando la mortalidad es la mitad de la inicial, empieza un descenso menos precipitado, aunque constante, notándose la pérdida gradual de eficiencia.

**Aldrin.**— Presenta una de las más elevadas toxicidades iniciales, pero el descenso en la pérdida de efectividad se muestra constante y precipitado. De 91% de mortalidad inicial, pasó a 15% en la cuarta prueba.

**Heptaclor.**— Presenta una curva descendente acentuada, que determina una pérdida más o menos proporcional de efectividad, a la del Aldrin. De 85% de mortalidad inicial, acusó 13% en la cuarta prueba.

En frijol se observan los siguientes resultados:

**DDT.**— Denota un alto índice de toxicidad inicial, 90%, mostrando en la pérdida de toxicidad de residuos, un margen de superioridad sobre el Heptaclor, manteniendo un nivel apreciable de efectividad aún en las últimas pruebas.

**Parathion.**— El nivel de efectividad inicial no es muy elevado, pero la pérdida de toxicidad hasta la segunda prueba, fue de sólo 10%. Del segundo al tercer análisis decrece considerablemente su eficiencia tóxica y sigue en adelante una curva descendente menos precipitada, pero constante hasta el sexto análisis.

**Endrin.**— Fue el que presentó menor eficiencia tóxica inicial por el porcentaje de mortalidad denotado. Debido a esto expresó una curva por debajo de los anteriores insecticidas, pero la línea de pérdida de toxicidad fue menos acentuada y logró cierta estabilidad desde el cuarto análisis.

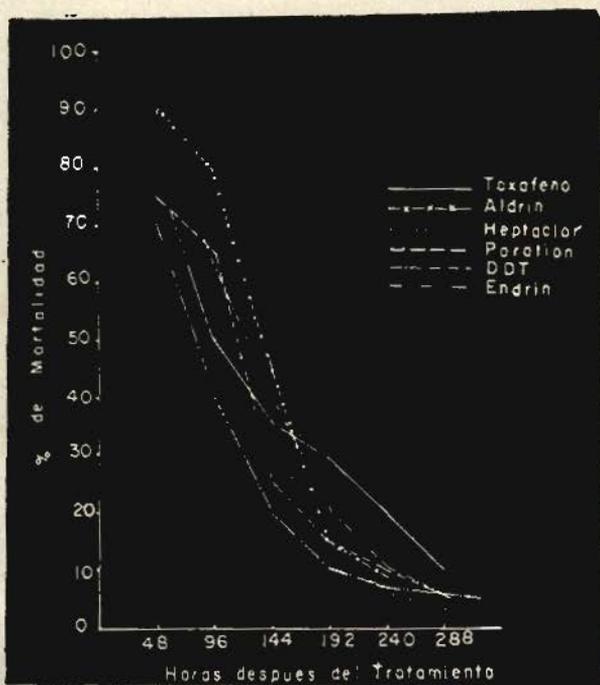
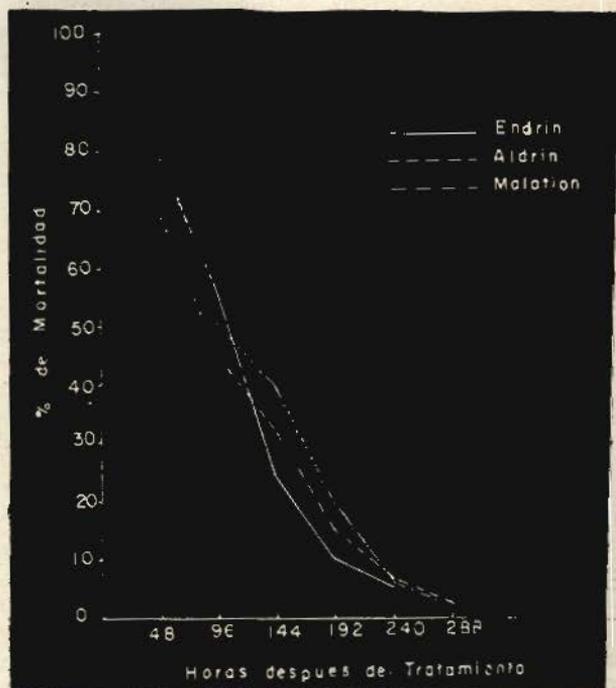
Las pruebas para tomate dieron los siguientes resultados:

**Endrin y Aldrin.**— El primero se mostró superior en su efectividad tóxica inicial en el tomate. Pero de la cuarta prueba en adelante el nivel de efectividad tóxica fue inferior al mostrado en frijol.

La eficiencia inicial del Aldrin en tomate, 70%, no fue tan notable como en maíz, 91%, y la línea del nivel de residuos tóxicos se mantuvo superior en maíz, aún en la quinta prueba.

**Malathion.**— Tuvo el mayor nivel de toxicidad inicial entre los insecticidas aplicados sobre tomate, pero el descenso en su efectivi-

**Figura 2.**— Curvas en función de tiempo posterior al tratamiento y mortalidad del *Artemia salina* por toxicidad de insecticidas en tomate



**Figura 3.**— Curvas en función de tiempo posterior al tratamiento y mortalidad de *Artemia salina* por toxicidad de insecticidas en maíz y frijol.

dad posterior fue así mismo notable, denotando una caída casi vertical en la pérdida de su poder protector.

### V. CONCLUSIONES

Hacia las 144 horas después de aplicados, los insecticidas usados denotaron por lo general, un alto porcentaje de efectividad tóxica residual.

El más alto índice de eficiencia lo mostraron: Aldrin en maíz, 45%, DDT en frijol, 40%, y Malathion en tomate, 40%, según los porcentajes de la mortalidad de *Artemia salina*, en análisis biológico 144 horas después del tratamiento insecticida.

Tomando como base las 240 horas posteriores a la aplicación de los insecticidas, se determinaron las siguientes cantidades de residuos tóxicos en los diferentes cultivos: en maíz más de 0,5 p.p.m. de Toxafeno y Aldrin, y menos de 0,5 p.p.m. de Heptaclor. En frijol se analizaron más de 0,5 p.p.m. de DDT y Endrin; y menos de 0,5 p.p.m. de Parathion. En tomate se determinaron tanto para Endrin como para Aldrin y Malathion, menos de 0,5 p.p.m.

A las 144 horas, posteriores a la aplicación de los insecticidas, todos ellos mostraron residuos superiores a 2,0 p.p.m.

A las 240 horas después de aplicados, los insecticidas que mostraron menor depósito de residuos tóxicos fueron: Heptaclor en maíz y Endrin en tomate. Los que al cabo del mismo tiempo mostraron los mayores depósitos tóxicos fueron: Toxafeno en maíz, DDT en frijol y Aldrin en tomate.

### VI. RESUMEN

El presente estudio se refiere a la determinación del efecto residual de siete insecticidas, aplicados sobre tres plantas de cultivo. Los depósitos tóxicos de los productos químicos son factor de especial interés en la represión de plagas, particularmente al tratarse de plagas de los cultivos.

Se incluye una revisión de literatura, que destaca la importancia de los insecticidas por su toxicidad residual y se describen los métodos seguidos por los investigadores en países de varios continentes, para valorar los residuos tóxicos de productos químicos, y una breve consideración de los alcances de sus experimentaciones.

Basándose en la técnica descrita por Michael, Thompson y Abramovitz, de análisis biológico utilizando el camarón de la salmuera, *Artemia salina*, el autor determinó la efectividad de ciertos insecticidas por su toxicidad residual y duración de eficiencia protectora, sobre tres plantas de cultivo: maíz, frijol y tomate.

Los insecticidas usados fueron: Toxafeno emulsionable de 60%. Aldrin emulsionable de 25%. Heptaclor emulsionable de 25%. DDT

polvo mojable de 50%. Parathion emulsionable de 46%. Endrin emulsionable de 18,5%. Malathion emulsionable de 50%.

Los insecticidas se agruparon por la duración de la toxicidad de sus residuos. Tomando un límite de 240 horas, después de la aplicación, los insecticidas que mostraron menor depósito tóxico al cabo de dicho tiempo, fueron: Peptaclor en maíz, Endrin en frijol y Endrin y Malathion en tomate, menos de 0,5 p.p.m. Los que mostraron los mayores depósitos tóxicos fueron: Toxafeno en maíz, DDT en frijol y Aldrin en tomate, 1 p.p.m., más de 0,5 p.p.m. y 0,5 p.p.m., respectivamente.

Los factores meteorológicos que se consideraron para este trabajo fueron: brillo solar, temperatura, humedad relativa y precipitación pluviométrica.

Los resultados obtenidos indican que los insecticidas utilizados tienen una elevada efectividad tóxica inicial; pero la acción de los diversos factores climáticos, dicha toxicidad desciende rápidamente hasta un nivel, localizado en un tiempo de 240 horas después de la aplicación del insecticida, que determina gran pérdida del potencial protector, como lo indican las gráficas correspondientes.

Esto nos indica que pasados diez o doce días, los tratamientos insecticidas deben repetirse para renovar la protección adecuada, que es el principal objetivo en la represión de plagas.

#### BIOANALISIS DE LOS RESIDUOS DE VARIOS INSECTICIDAS EN TRES PLANTAS DE CULTIVO

##### VI. SUMMARY

The present study refers to the determination of residual effect of seven insecticides applied on three crop plants. The toxic deposits of the chemical products are a factor of special interest in the repression of pests, particularly when it deals with pests in crops.

A revision of literature is enclosed to outline the importance of insecticides for their residual toxicity, and a description is made of the methods followed by investigators in various countries of the continent, to evaluate the toxic residues of chemical products, with a brief consideration of the extent of their experimentations.

Based on the technique described by Thompson, Michael and Abramovitz, of biological analysis using the brine shrimp, *Artemia salina*, the author determined the effectivity of certain insecticides for their residual toxicity and lasting efficiency of its protective duration on three crop plants: corn, beans and tomato.

The insecticides were: emulsionable Toxaphene of 60%, emulsionable Aldrin of 25%, emulsionable Heptachlor of 25%; DDT wettable powder of 50%, emulsionable Parathion of 46%, emulsionable Endrin of 18.5%, and emulsionable Malathion of 50%.

The insecticides were grouped for the duration of toxicity of their residues. Taking a limit of 240 hours after application, insecticides which showed less toxic deposit at the end of said time, were: Heptaclor on the corn, Endrin on beans and Endrin and Malathion on tomato, less than 0.5 p.p.m. The ones which showed the largest toxic deposits were: Toxaphene on corn, DDT on beans and Aldrin on tomato, 1 6.6.M., more than 0.5 p.p.m. and 0.5 p.p.m. respectively.

The meteorological factors which were considered for this work, were: hours of sun, temperatures, relative humidity and rainfall.

The results obtained indicate that the insecticides used have a high initial toxic effectivity; but due to the action of various climatic factors, such toxicity descends rapidly down to a level, placed at 240 hours time after the application of the insecticide, that determines a great loss of the potential protector, as the corresponding graphics indicate.

This shows us that after ten of twelve days, the insecticidal treatments should be repeated to renew the adequate protection, which is the principal objective in the repression of pests.

#### VII. BIBLIOGRAFIA CITADA

1. (Anónimo).— Malathion. Boletín agrícola N° 2. New York, S. B. Penick & Co.
2. ————.— Instrucciones para el uso y la aplicación correcta del insecticida DDT y el Neocid BA 50. Suplemento Agronómico de Agricultura Tropical N° 5. 1947.
3. ————.— Comprobación de los residuos de insecticidas. La Hacienda (5): 64. 1952.
4. Averrel, P.R. and M. V. Norris.— Estimation of small amounts of 0,0-Diethyl 0, p-nitrophenyl Thiophosphate. Anal. Chemistry 20: 753-754. 1948.
5. Bartlett, B. R.— A new method for rearing *Drosophila* and a technique for testing insecticides with this insect. Jour. Ec. Ent. 44:612 1951.
6. Biskind, M. S.— Public health aspects of the new insecticides. Amer. Jour. Digest. Dis. 20: (11): 331-341 1953 (Res. en Biol. Abstr. 28: 21574. 1954).
7. Brown, F. A. jr. and G. C. Stephens.— A culture method for *Artemia*. Illinois, Northwestern Univ., Evanston. Turtox News. 29 (7): 121. 1951. (Res. en Biol. Abstr. 26: 13704. 1952).
8. Burchfield, H. P. and A. Hartzell.— A new bioassay method for evaluation of insecticide residues. Jour. Ec. Ent. 48: 210-214. 1955.

9. **Burchfield, H. P., J. D. Hilchey and E. E. Storrs.**— An objective method for insecticides bioassay based on photomigration of mosquito larvae. *Contr. Boyce Thompson Inst.* **17** (1): 57-86. 1952.
10. **Burchfield, H. P. et al.**— Improved methods for rearing larvae of *Aedes aegypti* (1) for use in insecticide bioassay method. *Contrib. Boyce Thompson Inst.* **17** (5): 317-331. 1953. (*Res. en Biol. Abstr.* **28**: 9707. 1954).
11. **Bushland, R. C.**— Attempts to utilize mosquito larvae in a bioassay method for insecticide residues in animal products. *Jour. Ec. Ent.* **44**: 421-423. 1951.
12. **Carter, R. H.**— Status of analytical methods with respect to the determination of minimal quantities of insecticides. *Jour. Ec. Ent.* **48**: 424-425. 1955.
13. **Dahm, P. A. and J. E. Pankaskie.**— A biological assay method for determining Aldrin. *Jour. Ec. Ent.* **42**: 987-988. 1949.
14. **Decker, G. C. et al.**— A preliminary report on the rate of insecticide residue loss from treated plants. *Jour. Ec. Ent.* **43**: 919-927. 1950.
15. **Decker, G. C.**— Agricultural applications of DDT, with special reference to the importance of residues. *Jour. Ec. Ent.* **39**: 557-562. 1946.
16. **Dempster, R. P.**— The use of larval and adult brine shrimp in aquarium fish culture. *California Fish and Game.* **39** (3): 355-364. 1953. (*Res. en Biol. Abstr.* **28**: 210. 1954).
17. **Dustan, G. C.**— Effect of temperature on toxicity of DDT. *Canadian Ent.* **79** (1): 1-4. 1947. (*Res. en Biol. Abstr.* **23**: 17128. 1949).
18. **Eliassen, E.**— The energy-metabolism of *Artemia salina* in relation to body size, seasonal rhythms, and different salinities. *Univ. Bergen Arbok Naturv. rekke* **1952** (11): 1-17. 1952. (*Res. en Biol. Abstr.* **28**: 23689. 1954).
19. **Fautrez-Firlefijn, N.**— Etude cytochimique des acides nucléiques au cours de l'ovogenèse chez *Artemia salina*. *Commun 3mes journées Cyto Embryol. Belgo-Neerland.* 121-125. 1949. (*Res en Biol. Abstr.* **25**: 35572 1951).
20. **Fleming, W. E., L. W. Cole and W. W. Maines.**— Biological assay of residues of DDT and Clordano in soil, using *Macrocentrus ancylovorus* as tester insect. *Jour. Es. Ent.* **44**: 310-315. 1951.
21. **Gaines, J. C. and H. A. Dean.**— Effect of temperature and humidity on the toxicity of certain insecticides. *Jour. Ec. Ent.* **42**: 429-433. 1949.

22. ————.— Effect of climatic factors on the toxicity of certain insecticides. Jour. Ec. Ent. **43**: 602-605. 1950.
23. **Gaines, J. C. and W. J. Mistic.**— Effect of change of temperature, rain-fall and other factors on the toxicity of certain insecticides. Jour. Ec. Ent. **44**: 508-585. 1951.
24. **Gersdorff, W. A.**— Effect of change of temperature on relative toxicity of totenone and phenol. Jour. Agric. Res. **67** (2): 65-80. 1943. (Res en Biol. Abstr. **17**: 22644. 1949).
25. **Ginsburg, J. M., R. S. Filmer and J. P. Reed.**— Longevity of Parathion, DDT and Dichlorodiphenyl Dichloroethane residues on field and vegetable crops. Jour. Ec. Ent. **43**: 90-94. 1950.
26. **Guthrie, F. E.**— Effect of temperature on toxicity of certain organic insecticides. Jour. Ec. Ent. **43**: 559-560. 1950.
27. **Hadaway, A. B. and F. Barlow.**— Studies on aqueous suspensions of insecticides. Bull. Ent. Res. **43** (2): 281-311. 1952. (Res. en Biol. Abstr. **27**: 20754. 1933).
28. **Hartzell, A. and E. E. Storrs.**— Bioassay of insecticide spray residues in processed food. Contr. Boyce Thompson Inst. **16** (2): 47-53. 1950. (Res. en Biol. Abstr. **25**: 709-1951).
29. **Hinton, H. E.**— Resistance of dry eggs of *Artemia salina* to high temperatures. Ann. and Mag. Nat. Hist. **7** (74): 158-160. 1954. (Res. en Biol. Abstr. **28**: 29373. 1954).
30. **Hoffman, R. A. and A. W. Lindquist.**— Effect of temperature on knockdown and mortality of house flies exposed to residues of several chlorinated hydrocarbon insecticides. Jour. Ec. Ent. **32**: 891-893. 1949.
31. **Hoskins, W. M.**— Deposit and residue of the newer insecticides resulting from various control practices in California. Jour. Ec. Ent. **42**: 966-973, 1949 (Res. en Biol. Abstr. **25**: 12273. 1951).
32. **Itzerott, H.**— A rapid method for testing the rain-resistance of suspensions of DDT and DDT-hexachlorocyclohexane. Anz. Schädlingk. **26** (2): 25-26. 1953. (Res. en Biol. Abstr. **27**: 30881. 1953).
33. **Kartman, L. and M. M. da Silveira.**— Effect of short contact with DDT residues on *Anopheles gambiae*. Jour. Ec. Ent. **39**: 356-359. 1946.
34. **Keiser, I. and C. R. Henderson.**— A method for determining insecticides residues per unit of leaf surface. Jour. Ec. Ent. **44**: 1026-1027. 1951.

35. **Knutson, H.**— Susceptibility of a normal and an inbred strain of *Drosophila melanogaster* to Dieldrin, Toxaphene, DDT and Methoxychlor. *Jour. Ec. Ent.* **46**: 137-141. 1953.
36. **Leyland, L. W.**— Aldrin and Dieldrin. Reprinted from *World Crops*. **5** (6): Junio 1953.
37. **Lindquist, A. W. et al.**— DDT residual type sprays as affected by light. *Jour. Ec. Ent.* **39**: 55-58. 1946.
38. **Mc Donough, E. S.**— Inhibition of mold contamination in *Drosophila* food using sodium orthophenylphenate. *Science*. **181**: 388. 1953.
39. **Mc Kelvey, J. J. y D. Parker.**— Nuevos insecticidas. México, D. F. Secr. de Agric. y Gan. Bol. técnico N<sup>o</sup> 2. Octubre 1948.
40. **Michael, A. S., C. G. Thompson and M. Abramovitz.**— *Artemia salina* as a test organism for bioassay. *Science*. **123** (3194): 464. 1956.
41. **Nagasawa, S.**— Studies on the biological assay of insecticides. *Oyo-Kontyu*. **8** (1): 29-33. 1952. (Res. en Biol. Abstr. **28**: 9716. 1954).
42. **Pfaeffle, W. O.**— Residual effect of four insecticides in controlling certain insects on corn. *Turrialba* **6**: 74-80. 1956.
43. **Princi, F.**— Human toxicity of certain chlorinated hydrocarbon insecticides. Paris. Third Intern. Congr. of Phytopharmacy. September 1952.
44. **Satyanarayana, P.**— The rate of loss of DDT deposits under field conditions. *Madras Agric. Jour.* **39** (9): 471-477. 1952. (Res. en Biol. Abstr. **27**: 18086. 1953).
45. **Smith, F. F. P. Giang and R. A. Fulton.**— Residues of Malathion on greenhouse lettuce and tomatoes and on green onions. *Jour. Ec. Ent.* **47**: 183-184. 1954.
46. **Smith, F. F., P. Giang and E. A. Taylor.**— Reduction of Malathion residues on vegetables by washing. *Jour. Ec. Ent.* **48**: 209-210. 1955.
47. **Sun, Y. P. and J. E. Pankaskie** — *Drosophila*, a sensitive insect, for the microbioassay of insecticide residues. *Jour. Ec. Ent.* **47**: 180-181. 1954.
48. **Sun, Y. P. and J. Y. Tung.**— Microbioassay of insecticides, with special reference to Aldrin and Dieldrin. *Jour. Ec. Ent.* **45**: 26-36. 1952.

49. **Tung, J. Y. and Y. P. Sun.**— Microbioassay of insecticides in milk by a feeding method. Jour. Ec. Ent. **46**: 927-930. 1953.
50. **Turner, N. and N. Woodruff.**— Toxicity of DDT residues. Connecticut Agric. Exp. Sta. New Haven. Bull. 524. 1948.
51. **Viale, E.**— Bioanálisis de residuos de insecticidas con moscas *Drosophila* de alas vestigiales. Turrialba. **4** (2): 61-65. 1954.
52. **Waites, R. S.**— A laboratory method for evaluating insect-repellent chemicals. Abstr. Doctoral Diss. Ohio State Univ. **62** (1949-50): 269-273. 1951. (Res. en Biol. Abstr. **27**: 30891. 1953).
53. **Ward, J. and P. E. Burt.**— The persistence and fate of DDT on foliage. II— Comparative rates of loss of DDT deposits from glass plates and growing leaves. Bull. Ent. Res. **46**: 849-868. 1955. (Res. en Outlook on Agriculture. **1** (2): 81. 1956).
54. **Weigel, C. A.**— Effect on truck crops of DDT applied to the foliage. Washington, U.S. Dept. of Agr. Bull. 1034. 1951.
55. **Wilcoxon, F.**— Individual comparison of insecticides. Jour. Ec. Ent. **39**: 269-270. 1946.
56. **Yamasaki, M.**— Limnological studies of idiothropic inland waters. Phisiol. and Ecol. Contr. Otsu Hydrobiol. Exp. Sta. Kyoto Univ. **51**: 1-29. 1945. (Res. en Biol. Abstr. **25**: 9965. 1951).