

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE AGRONOMIA



TOXICIDAD DE UN NUEVO INSECTICIDA
SOBRE Heliothis virescens ((Fabricius)),

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
INGENIERO AGRONOMO PARASITOLOGO

P R E S E N T A

GILBERTO GARZA DE LA FUENTE

MARIN, N. L.

JULIO DE 1985

T

SB945

.C8

G3

ε.1



1080061949

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE AGRONOMIA



TOXICIDAD DE UN NUEVO INSECTICIDA
SOBRE Heliothis virescens (Fabricius).

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
INGENIERO AGRONOMO PARASITOLOGO

PRESENTA

GILBERTO GARZA DE LA FUENTE

MARIN, N. L.

JULIO DE 1985

6611

T/
SB945
.C8
.G3



Biblioteca Central
Misma Solidaridad
F. Tesis

040.632

FA3

1985

e.5

A MI MADRE GLORIA DE LA FUENTE ARROYO

Para quien lo da todo a cambio de nada y quien perdona y disculpa todo.

Para quien lo es todo en mi vida y me da alientos para seguir adelante con su ejemplo de optimismo y buena voluntad.

Por tu infinito sacrificio y tu admirable abnegación quien te admira y te bendice por ser mi Madre y a la cual quiero muchísimo.

GILBERTO GARZA DE LA FUENTE

A mi hermano Reynaldo Garza de la Fuente: Quien me dió de sí - todo lo mejor de su persona y quien con sus errores me encauso por el camino que recorrió.

A Ricardo Lujan Tapia: Con quien a través del tiempo crecimos, y maduramos juntos, quien me brindó su apoyo moral y me brindó ánimos y consejos para terminar mi carrera, así como con todo-respeto a su familia quien me acogio en su seno no como un extraño sino como un miembro más de ella. Y a Victor Manuel Rodríguez Elizondo dondequiera que este.

A mis amigos:

Juan José Plascencia Azamar

José Fco. Plascencia Azamar

Oscar Luis Rodríguez Elizondo

Quienes me brindaron apoyo y ánimos para la realización del -- presente que vivo.

A Hugo Rolando Salinas y a su apreciable familia, quienes me - dieron su amistad y confianza a todo lo largo de mi carrera y- quienes nunca pidieron ni esperaron nada a cambio de sus aten- ciones y amistad.

A mis compañeros:

Cesar Saenz Treviño

Leonides Calvillo Alvarez

Quienes cursaron toda la carrera conmigo y con el paso de los- semestres nos conocimos y simentamos un compañerismo y amistad lleno de confianza y mutuo entendimiento.

Agradezco a mi asesor: Ing. Cuauhtémoc Núñez Ramos, quien es - una magnífica persona y un mejor maestro y guía en el terreno-profesional, el cuál me brindo paciencia y estimación a lo largo del desarrollo de la presente tésis.

Agradezco al cuerpo docente y administrativo del área de Parasitología, maestros, secretarias, laboratoristas, quienes me - alentaron y brindaron su amistad a lo largo de la carrera con-toda mi estimación y aprecio.

Agradezco a la Srita. Rosa Elia Pérez Rendón. Por su paciencia empeño y consideración dada para la mecanografía de estra tra-bajo con estimación y afecto.

Agradezco al Ing. Jesús Orozco Aguilar; Por el apoyo recibido-al iniciar mi carrera profesional.

INDICE

	Pág.
I. INTRODUCCION	i
II. LITERATURA REVISADA.	1
2.1 Importancia económica de <u>Heliothis virescens</u> (Fabricius)	1
2.2 Ubicación taxonómica del gusano bellotero <u>H.</u> <u>virescens</u> (F.)	2
2.3 Descripción morfológica de los estados bioló- gicos de <u>H. virescens</u> (F.)	3
2.3.1 Adulto	3
2.3.2 Huevecillo	3
2.3.3 Larva	3
2.3.4 Pupa	4
2.4 Ciclo biológico	4
2.5 Medidas de control	5
2.5.1 Hidrocarburos clorados	5
2.5.2 Esteres organofosforados	5
2.5.3 Carbamatos	5
2.5.4 Parasitoides de origen vegetal	5
2.6 Control químico	5
2.7 Generalidades del compuesto utilizado en el estudio.	6
2.8 Generalidades de los aceites cítricos	8
2.8.1 Teorías sobre la formación de los aceites esenciales	9
2.8.2 La función fisiológica de los aceites esen- ciales.	13

	Pág.
2.9	Extracción y producción 13
2.10	Factores que afectan la estabilidad de los - aceites cítricos 15
2.10.1	Agentes estabilizadores o inhibidores 16
2.10.2	Degradación bacterial de aceites cítricos . . 17
2.11	Generalidades del aceite cítrico descortezado (Citrus stripper oil). 18
2.12	Propiedades físicas y químicas del d-limoneno 19
2.13	Autoxidación del d-limoneno durante almacenamiento 23
2.14	Antecedentes de baja toxicidad del d-limoneno en mamíferos. 24
2.15	Generalidades de parasitocidas 27
2.15.1	Disolventes 28
2.15.2	Emulsiones 29
2.15.3	Propiedades de las emulsiones 30
2.15.4	Clasificación 34
III.	MATERIALES Y METODOS 39
IV.	RESULTADOS Y DISCUSION 43
4.1	Primer bioensayo. 43
4.2	Segundo bioensayo 43
4.3	Tercer bioensayo 43
4.4	Cuarto bioensayo 44
4.5	Testigos. 44
4.6	Discusión del primer bioensayo 44

	Pág.
4.7 Discusión del segundo y tercer bioensayo. .	44
4.8 Discusión del primer y cuarto bioensayo . .	45
V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	46
VI. RESUMEN	49
VII. BIBLIOGRAFIA	51
APENDICE DE TABLAS	57

INDICE DE TABLAS

TABLA		Pág.
1	Algunos insecticidas recomendados por la SARH (Dirección General de Sanidad Vegetal) para el año de 1984 en los cultivos que ataca el gusano bellotero <u>Heliothis virescens</u> (Fabricius)	7
2	Propiedades físicas y químicas de d-limoneno.	19
3	Constantes químicas para d-limoneno.	20
4	Comparación de las dosis letal media (LD ₅₀) oral y subcutánea para rata del d-limoneno y otros parasitocidas	25
5	Principales propiedades de los disolventes -- utilizados en la formulación de plaguicidas .	28
6	Relación entre la solubilidad ó dispersabilidad en agua y el BHL (Balance Hidrofilo-Lipofilo) de los emulgentes	32
7	Balance Hidrofilo-Lipofilo (BHL) del emulgente necesario para obtener emulsiones del tipo -- aceite en agua de los compuestos indicados. .	33
8	Tensiones superficiales respecto al aire y -- agua expresadas en Ergios/cm ² y coeficiente -- de mojabilidad respecto al agua con distintos solventes	38
9	Dieta Shorei modificada	39

INDICE DE FIGURAS

		Pág.
FIGURA		
1	Mecanismo propuesto de la formación de terpe- nos a través del intermedio lonalool.	11
2	Esquema de la disposición de las moléculas de emulgentes en las emulsiones.	30
3	a) Angulo de contacto (σ) de una gota de lí- quido con tensoactivo; b) sin tensoactivo . .	36

INTRODUCCION

"En la República Mexicana, en los últimos tres años se cultivaron 473 mil hectareas de algodón, en las que se hizo una erogación por concepto de insecticidas de 500 millones de pesos, tan solo para el control del gusano bellotero se erogaron 325 millones de pesos, ó sea el 65% del costo de plaguicidas, el otro 35% correspondió al resto de plagas" Nieto G. A. (1975).

El gusano bellotero Heliothis virescens (Fabricius) causa daños severos a una cantidad considerable de cultivos agrícolas comprendidos en solanaceas, cucurbitaceas, compuestas y leguminosas principalmente. Distribuido prácticamente en toda la República Mexicana y reportado como principal plaga en importantes zonas agrícolas del país.

El control para este insecto a traído erogaciones muy elevadas, en algunos casos ocasionando daños ecológicos al eliminar parásitos y predadores de este insecto.

El presente trabajo se planteo ante la necesidad de encontrar nuevos medios de control para este insecto, determinándose los objetivos a seguir, que son los siguientes:

- Evaluar la toxicidad de un nuevo insecticida de origen botánico para controlar poblaciones de Heliothis virescens (Fabricius) bajo condiciones de laboratorio.

- Determinar la dosis letal media (LD50) por contacto al utilizar el nuevo insecticida cuya fórmula es d-paramenta,1,8-dieno-1-metil-para-iso-propenil-1-ciclohexano.

LITERATURA REVISADA

2.1. Importancia económica de Heliothis virescens (Fabricius)

Según León López, R.L. (1973) del total de las aplicaciones de insecticidas contra el complejo de plagas del algodón en la costa de Hermosillo, el 50-60% van dirigidas al gusano bellotero H. virescens (F.).

De las plantas cultivadas en el noroeste de México, H. virescens (F.) es plaga del algodón, sandía, melón, berenjena, cártamo, soya, pepino, garbanzo. León López R.L. (1974).

Pérez Espinoza (1980), reporta daños considerables en tabaco por el gusano de la yema del tabaco H. virescens (F.) - en la región tabaquera de Santiago Ixcuintla, Nayarit.

Existen muchos reportes bibliográficos del daño que causa el gusano bellotero sobre ~~muchos~~^{varios} cultivos, pero el algodón es un cultivo de primera importancia social y económica en el campo, la industria y la exportación.

Prado, M.R. (1981), reporta que en la actualidad se cultivó en el país alrededor de 370 mil hectáreas con una producción media de 1.6 millones de pacas. De éstas alrededor del 40% se destina al uso doméstico, y el resto se exporta a diversos países. El valor de la producción es de 16 500 millones de pesos y genera divisas del orden de 8 500 millones de pesos, más 1 700 millones de pesos por concepto de hilados y prendas de vestir. De entre los productos agrícolas de exportación es superado solo por el café. Además aporta alrededor de 600 mil toneladas de semillas de la cuál se obtienen diver

esos subproductos tales como aceite comestible, harinolina y cascarilla para la alimentación del ganado.

SARH-INIA (1981), también reporta que la producción de algodón en el campo genera 28.5 millones de jornales al año lo cuál provee ocupación para 65 mil jefes de familia en los sectores ejidal y de la pequeña propiedad. En total incluyendo el cultivo y la cosecha, así como los procesos de transportación, comercialización e industrialización, se estima que -- 3.5 millones de personas derivan sus ingresos total ó parcialmente de la actividad algodonera.

El gusano bellotero se encuentra dentro de las principales plagas agrícolas en el mundo y sus daños son incalculables, debido principalmente a la gran abundancia de cultivos-hospederos que le sirven de alimento y reproducción, y a la cantidad de gastos que demanda para su control. En nuestro país, el gusano bellotero se encuentra en todas las zonas --- agrícolas y es una de las plagas que ha tenido mayor incidencia en los rendimientos y costos de producción de varios cultivos. Boulle Almada, L. (1975).

2.2. Ubiación taxonómica del gusano bellotero H. virescens -- (F.) Coronado R. (1982).

Reino - Animal

Phyllum - Arthropoda

Subphyllum - Euarthropoda

Clase - Insecta

Subclase - Pterygota

Orden - Lepidoptera
 Suborden - Macrolepidoptera
 Superfamilia - Hesperioidea
 Familia - Noctuidae
 Género - Heliothis
 Especie - virescens

2.3. Descripción morfológica de los estados biológicos de H. virescens (F.).-

2.3.1. Adulto: Es de color verde-pálido ó pistache, presenta tres rayas longitudinales en las alas anteriores en forma longitudinal, miden 2,5 cm de expansión alar por 2 cm de largo.

La vena subcostal y la radial en el ala posterior fusionadas en una corta distancia, más allá una pequeña areola basal, donde se separan; la vena cubital en el ala posterior con tres ó cuatro ramificaciones (la vena media dos, en el ala posterior a menudo ausente ó débil). Los ocelos casi siempre presentan, antenas delgadas y filamentosas, nunca plumosas; palpos extendidos a la mitad de la cara ó más allá. J. Borrer D. y Richard, E. W. (1970).

Las hembras difieren del macho en que tienen el abdomen largo con un penacho de pelos.

2.3.2. Huevecillo: Miden un milímetro, achatados de los polos y estraidos de color verde.

2.3.3. Larva: Miden de 4-5 cm teniendo una raya ancha en la región pleural sobre el área supraespiracular, en el --

tercer segmento torácico presentan cuatro pináculos muy prominentes de color negro, formando un cuadro imaginario y presentando dos pináculos a la mitad de ese tamaño en la región dorso pleural. Larvas de color verde claro a verde oscuro ó pudiendo ser rosa, ocre ó negro; en el octavo segmento abdominal en los tubérculos setíferos presentan microespinas en los tubérculos I y II, en las mandíbulas se aprecia un retináculo ó diente de color café oscuro ó negro en la cara interna, esta diferenciación se dá con Heliothis zea (Boddie) y solo es posible del tercer instar en adelante; la larva es de tipo -- eruciforme.

2.3.4. Pupa: Cubierta de color café, notándose los apéndices, de 2.5 a 3.0 cm de largo.

2.4. Ciclo biológico.- Palomillas de hábitos nocturnos, período de vida de hembras y machos de 10-12 días, a los dos días de la emergencia copulan, al siguiente día ovipositan de 350-500 ó aún a veces 1,000 huevecillos, ovipositándolos en forma aislada en las yemas terminales, estos eclosionan en un período de 2-6 días, las larvas pasan por seis instares siendo estos los más dañinos, ocurriendo esto en doce días en los trópicos y de 18-21 días en zonas templadas, después baja de la planta y pupa en el suelo a unos 5-7 cm de profundidad, siendo el período pupal de 8-12 días y después emerge la palomilla completando su ciclo total de más o menos 36-44 días, Treviño Martínez, José de Jesús (1983); Núñez Ramos Cuauhtémoc, (1983).

2.5. Medidas de Control.- Existe una abundante bibliografía en lo que respecta a control biológico, tanto natural ó inducido; control físico y control químico, el caso que se ocupa en el presente estudio, es el control químico del gusano bellote ro estos se dividen en cuatro grandes grupos como sigue:

2.5.1. Hidrocarburos clorados: Muy eficaces contra larvas, ninfas y adultos y a veces contra pupas, su mayor inconveniente es la alta persistencia de sus residuos en el suelo, animales y plantas. Por otra parte son poco selectivos y pueden inducir resistencia en las plagas.

2.5.2. Esteres organofosforados: Actúan por contacto, ingestión ó acción fumigante, se encuentran en productos de acción sistemática bastante selectiva, materiales altamente tóxicos, tienen a favor el hecho de metabolizarse rápidamente sus residuos, por lo general son menos persistentes.

2.5.3. Carbamatos: El insecticida más prominente es el carbaryl ó sevin, muchos de ellos tienen baja toxicidad para los mamíferos y son hasta cierto punto selectivos, se degradan rápidamente en vivo. Durán Pompa, H.A. (1981).

2.5.4. Parasiticidas de origen vegetal: Pueden ser los extractos de vegetales o sintéticos de estos, por ejemplo derivados del tabaco, rotenona, piretrina, etc, entre los principales, y como sintéticos los piretroides.

2.6. Control Químico.- En la Tabla 1, se enuncian algunos insecticidas químicos recomendados por la SARH (Dirección Gene-

ral de Sanidad Vegetal) para el control del gusano bellotero-
Heliothis virescens (Fabricius) en diferentes cultivos.

2.7. Generalidades del compuesto utilizado en el estudio.- El compuesto utilizado para este estudio es un aceite volátil, - que para fines prácticos puede ser definido como cuerpos odoríferos de naturaleza oleosa, obtenidos casi exclusivamente - de fuentes vegetales, generalmente líquidos (algunas veces sólidos o semisólidos) a las temperaturas ordinarias y volátiles sin descomposición. Kirk R., E. y D.F. Othmer (1962).

La mayor parte de los aceites volátiles están compuestos de terpenos, sustancias oxigenadas, sesquiterpenos y una pequeña cantidad de residuos no volátiles, la esencia de naranja contiene aproximadamente 85% de d-limoneno.

La unidad fundamental en la estructura de los terpenos - es el isopreno, C_5H_8 , siendo un hemiterpeno, estrictamente hablando, un hidrocarburo cíclico cuya fórmula molecular es múltiplo de C_5H_8 . Kirk R., E. y D.F. Othmer (1962).

La unidad isoprénica es uno de los bloques constructivos más comunes en la naturaleza, no solo aparece en el caucho sino también en una amplia variedad de compuestos que se aíslan de fuentes vegetales y animales. Así, prácticamente todos -- los terpenos tienen esqueletos carbonados constituidos con -- unidades de isopreno unidas entre sí de un modo regular, generalmente en su totalidad.

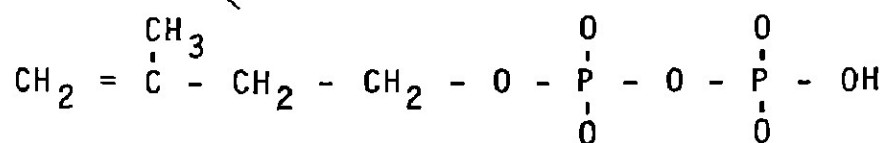
Aparentemente, todas las unidades isopreno de la naturaleza tienen su origen en una misma sustancia, el pirofosfato de isopentilo, cuya fórmula estructural se da a continuación.

TABLA 1. Algunos insecticidas recomendados por la SARH (Dirección General de Sanidad Vegetal) para el año de 1984 en los cultivos que ataca el gusano bellotero Heliothis virescens (Fabricius).

FAMILIA	PLANTA	PLAGUICIDA	FORMULACION	DOSIS/HA.	TOLERANCIA (PPM)	INTERVALO DE SEGURIDAD EN DIAS
Cucurbitaceas	Sandía	Carbaryl	PH 80	2.0-3.0 Kg	10.0	Sin límite
		Metomyl	PS 90	0.3-0.4 Kg	0.2	3
	Pepino	Carbaryl	PH 80	2.0-3.0 Kg	10.0	Sin límite
		Metomyl	PS 90	0.3-0.4 Kg	0.2	3
		Metamidofos	LM 50	1 litro	1.0	3
		Carbaryl	PH 80	2.0-3.0 Kg	10.0	Sin límite
		Metomyl	PS 90	0.3-0.4 Kg	0.2	3
		Metamidofos	LM 50	1.0-1.5 lto.	0.5	1
	Melón	Metomyl	PS 90	0.3-0.4 Kg	0.1	1
		Parathión Met.	CE 63	1 litro	1	15
Berenjena	Carbaryl + P.M.	PH80+CE63	2.5 Kg + 1 lto	10+1	15	
	Metamidofos	LM 50	1.0-1.5 lto.	1.0	Sin límite	
	Metomyl	PS 90	0.3-0.4 Kg	0.2	1	
	Naled	CE 58	1.0-1.5 Kg	0.5	1	
Solanaças	Tomate	EPN	2 litros	0.5	3	
		Parathión Met.	CE 63	1 litro	0.75	7
	Algodón	Monocrotofos	LM 56	1.0-1.5 lto.	0.1	21
		Bacillus	PH 3.2	0.5-1.0 Kg	(*)	Sin límite
		Thuringiensis	PS 75	0.75-1.0 Kg	(*)	3
Rosaceas	Tabaco	Acefate	POLVO 4	20.0-25 Kg	(*)	5
		Monocrotofos	CE 20	2.0-2.5 lto.	2	5
	Fresa	Azinfos metil	PH 40+	2.5-3.0 Kg	10.0+	4
		Carbaryl	PH 30	2.5-3.0 Kg	2.0	4
		Endosulfan	CE 35+	3.0 lto.+	0.2+	(**)
Compuestas Cártamo	Fresa	Endosulfan	CE 50	1.0 litro	0.1	(**)
		Parathión Met.	CE 63	1.0 litro	0.1	(**)
		Parathión Met.	CE 63	1.0 litro	0.1	(**)

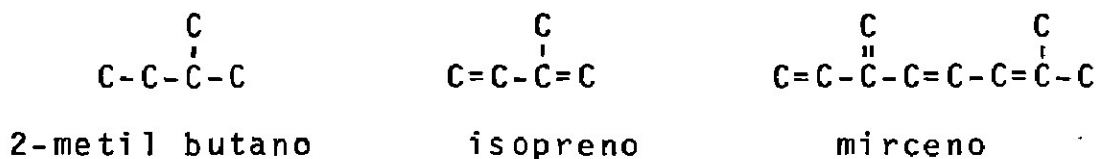
(*).- Sin tolerancia debido a que no es comestible.

(**).- No aplicar después de la floración.



Trabajos efectuados desde 1950 aproximadamente han demostrado como el colesterol, se constituye paso a paso con unidades isoprénicas. Morrison R.T. (1973).

Un carácter de tales hidrocarburos y de sus derivados es la presencia de la estructura carbonada del 2-metil butano como unidad fundamental.



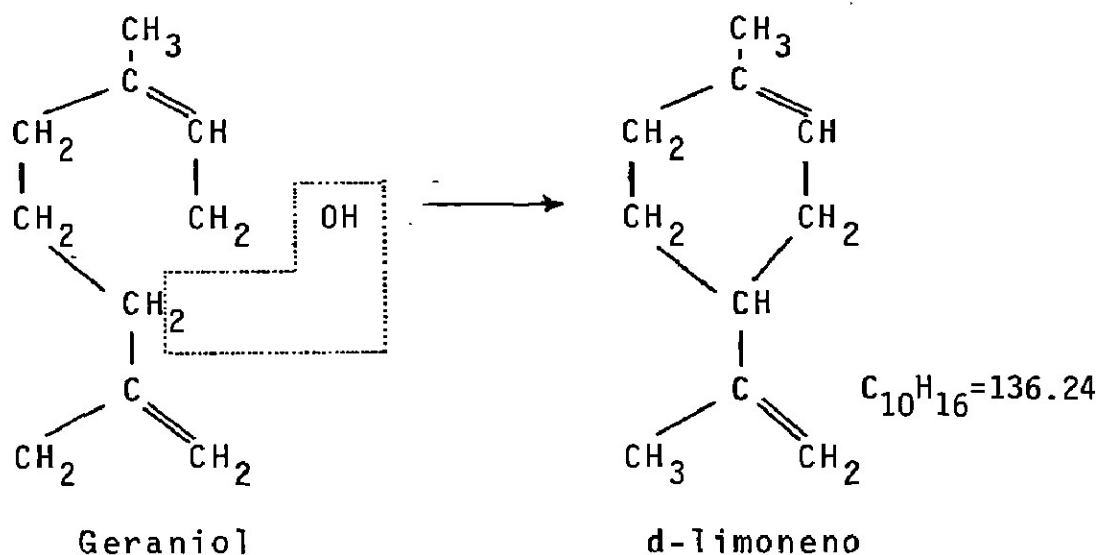
Usos de los terpenos: Son importantes artículos de comercio, se emplean directamente ó como materias primas para la preparación de perfumes, saborizantes, revestimientos, protectores, productos farmacéuticos, bactericidas, agentes de flotación, catalizadores de condensación, aditivos de lubricantes, para grandes presiones, adhesivos, disolventes y plastificantes. Kirk R., E. y D.F. Othmer (1962).

2.8. Generalidades de los aceites cítricos.- El aceite cítrico es obtenido del prensado de miles de agujas sobre la epidermis. Muchos investigadores han señalado que la calidad de los aceites cítricos depende de muchos factores; algunos de estos como el suelo, clima. método de extracción del aceite, madurez de la fruta, etc., así como las características físico-químicas. Jesterson, J.W. Hendrickson, R. y J. Braddock -

(1974).

2.8.1. Teorías sobre la formación de los aceites esenciales.- Ciertos aspectos de la biosíntesis de los aceites esenciales todavía no están claramente elucidados. Las vías metabólicas de los terpenos todavía se hallan supeditadas a -- discusión y han sido propuestos varios esquemas que se apoyan en la regla isoprénica. Paracoran, J.C. (1977):

Es posible que la formación de los terpenos tenga lugar por deshidratación de los alcoholes de fórmula general $C_{10}H_{18}O$ con los que están estrechamente relacionados, ya que éstos -- pueden obtenerse in vitro. Durante la deshidratación, la formación del anillo tiene lugar de la siguiente manera:



La teoría más atractiva en relación con la formación de los aceites esenciales en la planta y del precursor real de los terpenos ha sido propuesta por Read citado por Braverman, J.B.S. (1952), quién considera como sustancia clave el al----

cohol acíclico geraniol ($C_{10}H_{18}O$) o su estereoisomero, el nerol; el geraniol puede igualmente convertirse en terpenos (limoneno) por deshidratación, tal como se expresó anteriormente.

Debido a la gran movilidad de este agrupamiento, puede considerarse el geraniol como la sustancia originaria de una gran variedad de terpenos cíclicos y cuerpos afines, cuya concurrencia se ha observado en productos vegetales, sin embargo, es dudoso que el geraniol sea siempre la sustancia clave.

El alcohol linalool, está presente en mayor cantidad que cualquier otro constituyente simple, no en la mayoría sino en todos los aceites. Como consecuencia de esos descubrimientos, parece razonable creer que el linalool puede ser un predecesor de la biogénesis de muchos de los componentes del sabor cítrico. La formación del mayor hidrocarburo terpeno identificado en el estudio, puede ser contado por un mecanismo como sigue (figura 1): El linalool primero es atacado por un protón el cuál causa la eliminación del agua para formar el ión carbonium A. Este ión puede estabilizarse así mismo por la pérdida de un protón para formar una mezcla de myrceno y ocimeno, ó este puede reorganizarse para formar el ión B el cuál cicliza para formar el ión C, el ión C puede perder un protón para dar una mezcla de limoneno y terpinoleno, ó este puede ciclizar a ión D, el cuál tras la pérdida de un protón dará una mezcla de α - β -pineno. Kesterson, J.W., Hendrickson, R. y J. Braddock (1974).

Algunos, sin embargo, son de la opinión de que los terpenos se originan a partir de las proteínas o de los hidratos -

de carbono, ésta parte de un aminoácido, la leucina, y se reune en el primer esquema al nivel de β -hidroxi- β -metil glutarilácido, fase intermedia de la formación del iso pentenil pirofosfato. Barverman J.B.S. (1952).

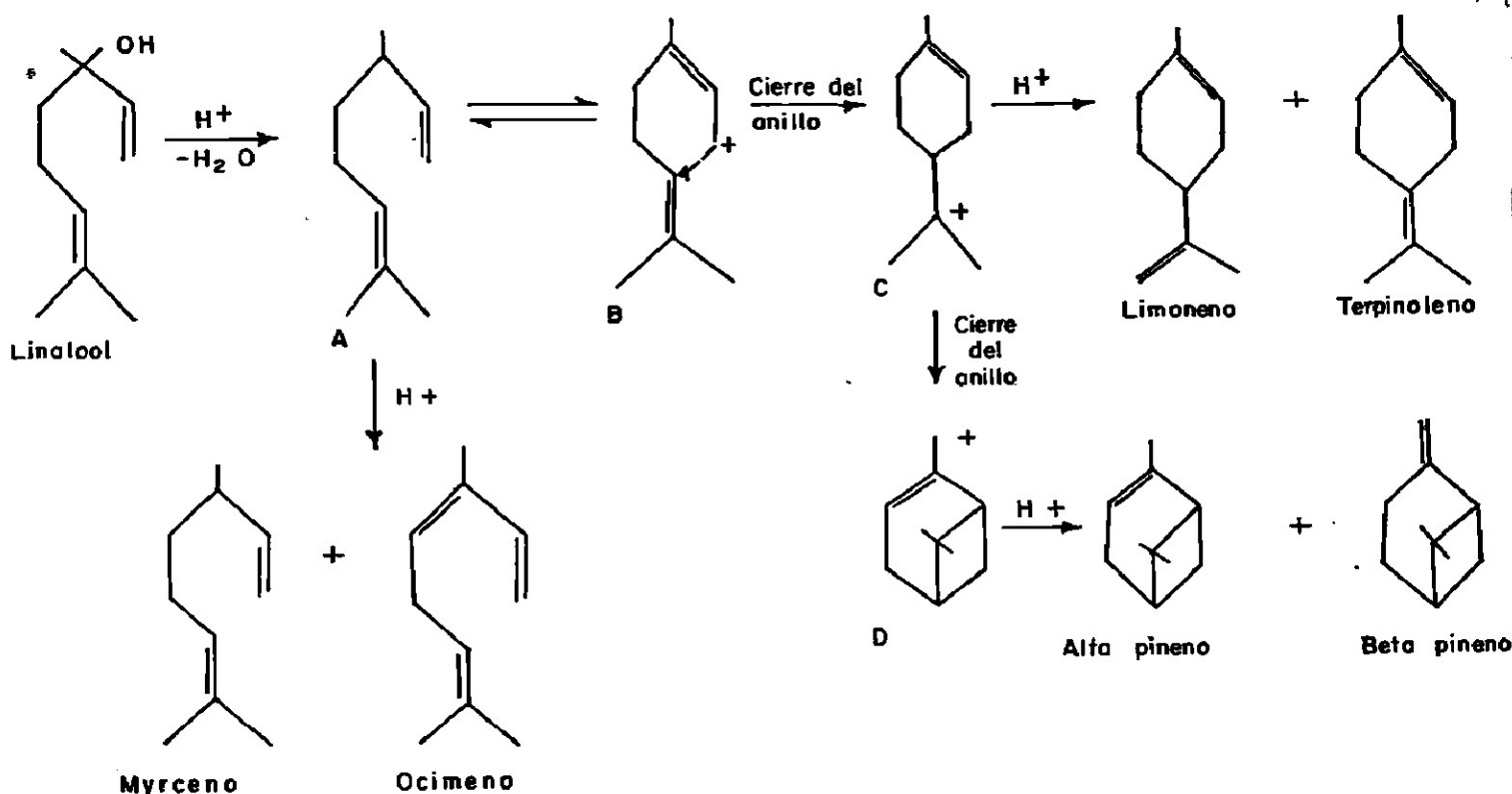
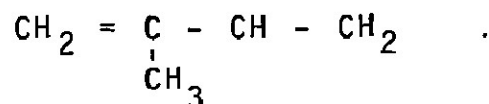
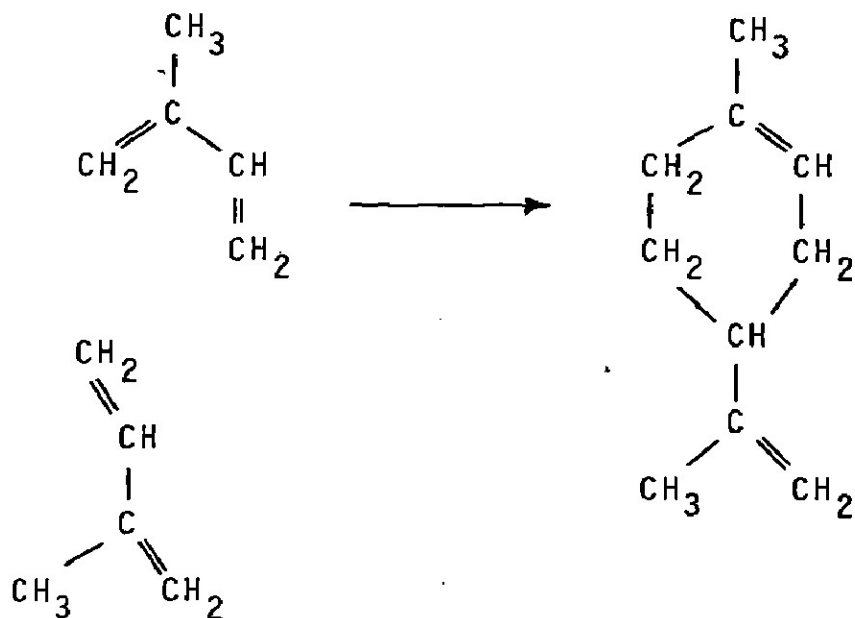


Figura 1: Mecanismo propuesto de la formación de terpenos a través del intermedio linalool.

Ruzicka citado por Braverman J.B.S. (1952), ha presentado una hipótesis, según la cuál la mayor parte de los terpenos se pueden considerar constituidos por un esqueleto de isopreno, el hidrocarburo alifático no saturado C_5H_8 cuya estructura es la siguiente:



En efecto, el dipenteno, ó forma racémica del limoneno, se obtiene sintéticamente mediante polimerización del isopreno después de calentarlo a 300°C:



Dos moléculas de isopreno

Dipenteno

Del mismo modo, el isopreno se forma cuando se hace pasar el limoneno ó dipenteno por un alambre de platino calentado al rojo vivo, esta forma racémica, que es ópticamente inactiva.

La hipótesis del isopreno es la que más adeptos tiene, ya que podemos considerar que el fitol (la fracción alcohólica de la clorofila), los carotenoides, los esteroides e incluso el caucho, son derivados de aquel compuesto, el cuál es considerado como la unidad estructural. Se puede probablemente aceptar ésta hipótesis, en apoyo de la opinión de que los aceites esenciales se forman durante la fotosíntesis en las células epidérmicas de los frutos y hojas. Braverman, J.B.S. (1952).

2.8.2. La función fisiológica de los aceites esenciales.-

La función en la planta es más bien oscura y solo se han propuesto teorías finalistas para explicar el papel biológico de los aceites. En general, se cree que su olor ejerce atracción sobre los insectos y que, por su mediación, favorece la polinización. Por otra parte, ciertas observaciones demuestran que el aceite esencial de la piel de los frutos desempeña un papel protector ante el ataque de los insectos, pero parece más satisfactorio en ausencia de cualquier prueba definitiva, considerar a los aceites esenciales, igual que a los alcaloides y taninos como productos de desecho del metabolismo de las plantas. Paracoran, J.C. (1977), Braverman, J.B.S. (1952).

2.9. Extracción y Producción.- La extracción de los aceites esenciales se puede hacer a partir de las hojas (aceites foliares), a partir de las flores y a partir del fruto, cada uno de estos posee características físico-químicas y de luminiscencia diferenciativas.

En los métodos comerciales de manufactura de los aceites cítricos se menciona que en Florida hay siete diferentes tipos de equipos para la extracción, que son los siguientes: 1) ollita rodada (Pipkin roll), 2) extracción por prensa de tornillo (Screw press), 3) excoriador Fraser-Brace, 4) extractor rotatorio de jugo FMC, 5) extractor en línea FMC, 6) es-carificador AMC, 7) afeitadora de cáscaras Brown (Brown Peel-Shaver).

En años recientes, el extractor FMC en línea ha sido usado para producir aproximadamente el 60% del aceite producido en Florida, y el 40% restante fué hecho con la prensa de tornillo.

Cada uno de estos métodos producen una cantidad diferente de aceite lo cual influye en las características físico—químicas y de luminisencia. Kesterson, J.W., Hendrickson, R. y J. Braddock (1974). Los procedimientos manuales, como el raspado de la corteza con cuchara en Guinea y el sistema de esponja y escudilla en Sicilia, tienden a desaparecer.

La producción mundial de aceites esenciales es del orden de 5 000 ton, para naranja dulce, de 1 500 ton. para el limón, de 700 ton. para la lima, de 200 ton. para la bergamota y la mandarina y de unas decenas de toneladas para el pomelo.

Paraguay, principal productor de aceite esencial de hoja ó petit-grain bigarade, alimenta por sí solo las nueve décimas partes del mercado con una producción superior a las 300 ton.

El nerolí ó aceite esencial de la flor del naranjo amargo es producido principalmente en Francia, Italia, y Tunez y en menor cantidad en España, Argelia y Marruecos.

La esencia de la cáscara de naranja son extraídas por los países productores de zumos, como Estados Unidos, países mediterraneos, Brasil, etc. La esencia de la cáscara de naranja amarga es producida en Sicilia, Andalucía, Georgia (URSS). La esencia de bergamota es una especialidad de Calabria, pero existe también una pequeña producción en la Costa de Marfil. La esencia de mandarina verde es extraída en Sici

lia. En Florida y en Brasil se preparan esencias de mandarina.

La producción de esencia de lima fué durante largo tiempo una exclusiva de las Antillas, en las Islas de Dominica, y Haití.

La producción Mexicana ha alcanzado gran importancia y actualmente son numerosos los países tropicales que se dedican a esta industria remunerada. Paracoran, J.C. (1977).

Las técnicas de luminiscencia son consideradas generalmente como más sensitivas que los métodos de absorción y pueden ser aplicados a una amplia variedad de problemas cuantitativos y cualitativos, la fluorescencia ofrece una nueva técnica para la identificación y clasificación de los aceites cítricos.

Se cita por Kesterson, J.W. et al (1974) comentó que las técnicas de absorción ultravioleta que éste desarrolló para la evaluación de aceites de limón, se volvieron un procedimiento estandar para la evaluación de todos los aceites cítricos, ya que cada uno de estos aceites cítricos (naranja, limón, lima, mandarina, toronja, etc.) tienen una curva de absorción característica, y esta puede ser usada para identificar cada aceite en forma individual.

2.10. Factores que afectan la estabilidad de los aceites cítricos.- Una vez extraídos, los aceites cítricos pueden ser conservados por lo menos un año, con la condición de efectuar unas reglas estrictas de envasado y almacenaje. Conviene, an-

te todo, evitar la acción del aire, del agua, calor, y de los oxidantes en general, así como de la luz. Para las cantidades pequeñas de aceite cítrico se utilizan unos recipientes de vidrio de color, obturados con tapones de vidrio ó de corcho recubierto por una capa inatacable. Para cantidades importantes, se emplean barriles de hierro estañado, galvanizados ó barnizados en su interior.

El aceite cítrico es filtrado y, si presenta un aspecto turbio, conviene desecarlo sobre sulfato sódico que debe llenar por completo el recipiente, el almacenaje se efectúa en lugar fresco, con una temperatura constante con la condición de observar estas normas sencillas, cabe evitar el empleo de los antioxidantes. Paracoran, J.C. (1977).

2.10.1 Agentes estabilizadores o inhibidores. Son usualmente llamados "antioxidantes", estos antioxidantes pueden ser definidos como agentes químicos, los cuales estabilizan y preservan por retardar la oxidación y el desarrollo de malos olores y sabores.

El p-hidroxibenzoato en concentraciones de 0.2 a 0.10% no fué enteramente satisfactorio, la hidroquinona en las mismas concentraciones da resultados excelentes, aún en la mas baja concentración.

El aceite de germen de trigo usado solo, no fué tan bueno como la hidroquinona, mientras que una mezcla de aceite de germen de trigo e hidroquinona dan los mejores resultados. Una muestra, conteniendo esta mezcla, retiene su sabor sin cambios de color después de 7 meses de almacenamiento.

En adición a una efectiva acción inhibitoria hay otros -
diversos factores, los cuales deben considerarse cuando el --
uso de un antioxidante es considerado, esos factores son:

a).- Que sean suficientemente solubles en el producto en
cuestión para facilitar su uso.

b).- No impartirá color, sabor u olor desagradable aún -
después de almacenaje.

c).- Que sean estables bajo cualquier condición de proce-
samiento a la que deberá estar sujeto.

e).- Será relativamente barato y disponible en grandes -
cantidades.

2.10.2 Degradación bacterial de aceites cítricos; Murack y ---
Hunter citados por Kesterson, mostrarón que las emulsiones de-
aceites cítricos son un excelente medio para el crecimiento -
bacterial, la consecuencia de esto es el resultado de la for-
mación biológica de α -terpineol en el aceite. Encontrarón --
que cuando las bacterias fueron puestas para su multiplica---
ción en soluciones de aceites diluídas, el d-limoneno (compo-
nente principal del aceite cítrico) disminuye en proporción -
directa al incremento en concentración de α -terpineol. Las -
emulsiones de aceite de mandarina, limón, naranja, y toronja-
experimentarón modificaciones indeseables como un resultado -
del crecimiento microbial, a esas emulsiones se les encontró-
conteniendo una microflora capaz de producir α -terpineol por-
hidrolisis del d-limoneno, la mayor actividad ocurrio en man-

darina y limón y la menor en toronja.

Se encontró que las buenas prácticas sanitarias juegan un papel importante en la producción de aceites cítricos de alta calidad. Esto indica la necesidad para mantener un programa sanitario eficiente en las fases iniciales del proceso de recuperación del aceite cítrico para prevenir un rápido crecimiento microbial y el correspondiente desarrollo de α -terpineol. La mayoría del equipo usado consiste en un tornillo conductor para transformar la cáscara a guijos muy finos y que lo pasa a la máquina acabadora, este equipo es extremadamente difícil de mantenerlo en condición sanitaria, el bombeo de este pasador de los extractores (FMC en línea) a los acabados aliviaría grandemente este problema. Kesterson, et al (1974).

2.11. Generalidades del aceite cítrico descortezado (Citrus - stripper oil).- Se le conoce como d-limoneno cuya fórmula desarrollada es: d-paramenta, 1,8-dieno-1-metil-para-iso-propenil-1-ciclohexano.

El d-limoneno se encuentra en muchos aceites esenciales, pero son preferiblemente obtenidos de los aceites cítricos, está substancialmente libre de otros terpenos y son dulces y libres de peroxidados, el d-limoneno de esta calidad puede ser obtenido por destilación de vapor de las cáscaras de cítricos y pulpas como resultado de la producción de jugos, por el producto de melaza de cítricos, emulsiones descortezadas resul-

tado de la producción de aceites exprimidos en frío ó de la -
deterpenización de aceites cítricos. El d-limoneno es un lí-
quido incoloro, móvil con un limpio olor a cítrico libre de -
alcanfores y trementina.

Ya que el aceite descortezado esta sobre el 95% de d-li-
moneno, este es considerado una de las fuentes más puras para
este terpeno monocíclico, al d-limoneno se le dá el mismo u-
so que a los terpenos en general.

2.12. Propiedades físicas y químicas del d-limoneno.- La ta-
bla 2 muestra las propiedades físicas y químicas de este acei-
te basado sobre la examinación de más de 25 muestras diferen-
tes. Kesterson-J.W., Hendrickson R. y R.J.- Braddock (1975).

TABLA 2. Propiedades físicas y químicas de d-limoneno.

Aceite descortezado	Máximo	Mínimo
Gravedad específica 25°C/25°C	0.8433	0.8398
Indice refractivo n_D^{20}	1.4721	1.4713
Rotación óptica* α_D^{25}	+ 98.90	+ 95.55
Contenido de Aldehido, %	1.50	0.47
Contenido de Ester, %	2.46	0.07
Residuos evaporativos, %	0.79	0.03

* D y L se refieren a la configuración absoluta; d y l se
interpretan como "dextro" y "levo" y se refieren a la -
dirección de la rotación óptica.

TABLA 3. Constantes químicas para d-limoneno.

D-limoneno	d-para menta,1,8-dieno-1-metil-pa ra-iso-propenil-1-ciclohexano.
Pureza	94 a 98%
Color	inoloro
Olor	limpio olor cítrico
Hanus Iodine No.	79.1
Copper Strip No.	0
Rotación optica α_D^{25}	+ 96 a + 104
Indice refractivo n_D^{20}	1.4710 a 1.4740
Gravedad específica 25°C/25°C	0.838 a 0.843
No. de ácidos	0.40
% de Aldehído	0.37 a 1.50
% de Ester	0.07 a 2.46
% de residuos evaporativos	0.03 a 0.80
Valor de peroxido	no más de 2.0
No. de saponificación	1.50
No. de Butanol kauri	62.75
Viscosidad a 25°C	3.5 centipoises
Punto de inflamación	35°C (121°F)
Punto de congelación	-96.9°C
Velocidad de calor (cals/g.mol)-	59.62 a 20.2°C
Temp. coef. de entropía (ds/dT) _p	0.2032 a 20.2°C
Coeficiente de expansión	ml/gal (°C) 2.88 (°F) 1.61 ml/bidón (°C) 152.2 (°F) 88.3

Continuación TABLA 3.

Destilación Engler

P.B.	175.7°C	50%	178.0°C
5%	177.0°C	60%	178.2°C
10%	177.6°C	70%	178.7°C
20%	177.6°C	80%	179.2°C
30%	177.9°C	90%	181.6°C
40%	178.0°C	95%	192.0°C

Miscibilidad de d-limoneno con otros solventes

Benzyl Benzoato, Dietil Ftalato	Completo
Trementina, Acetona, Eter de Petróleo	Completo
Gasolina, Espíritus minerales, Benzeno	Completo
Tolueno, Xileno, d-limoneno, Dipenteno	Completo
Cloroformo, Cloruro de carbono	Completo
Eter, Glicol etileno, n-Butyl propianato	Completo
Alcohol metílico, alcohol etílico, alcohol butílico, alcohol isopropílico, Acetato -- amyl, alcohol amílico	Completo
Glycerina	muy levemente soluble
Glycol propileno	insoluble

Miscibilidad de d-limoneno con aceites secantes (DRYING)

Acetie de linaza, crudo ó hervido,	
Aceite de tung, aceite de pescado, aceite de maíz,	
Aceite de esterfied extraordinario:	Completa

Continuación TABLA 3:

Miscibilidad con aceites no secantes (NON-DRYING)

Aceite de cachalote, Aceite de semilla de algodón, Aceite de cacahuate, Aceite de frijol-soya, Aceite mineral, Aceite rojo, Manteca de puerco	Completa
---	----------

Solubilidad de gomas y resinas a 25°C

100 cc de d-limoneno disolverán:

Charneca , ó lentisco	25 gramos
Brea seca (colofonia)	39 gramos
Copal de Kauri	35 gramos
Guaiac	1.8 gramos
Goma de éster	19 gramos

Solubilidad de ceras a 25°C

100 cc de d-limoneno disolverán:

Cera de abeja	13 gramos
Cera de Japón	17 gramos
Candelilla	13 gramos
Carnauba	1 gramo
Montana	5 gramos
Parafina	18 gramos
Ceresina	23 gramos

2.13. Autoxidación del d-limoneno durante almacenamiento.- Los productos oxidados son usualmente invendibles y a menudo no es económico el repurificar el material. El desarrollo de malos olores y sabores en algunos productos cítricos procesados, además de la deterioración del aceite esencial de cítricos ésta es indudablemente relacionada a la autoxidación del d-limoneno.

Casi no hay cambios en las propiedades físicas del d-limoneno almacenado en ausencia de aire, sin embargo, muestra un gradual incremento en el índice refractivo, valor de peróxido y número de ácidos, además de un marcado decremento de rotación óptica.

El almacenaje por doce meses bajo un gas inerte tal como nitrógeno en envases llenos con adición de hidroxitolueno butilado (50 a 100 ppm) se encontró que conserva la calidad original del limoneno.

La rotación óptica es aún el examen más sensitivo de diagnóstico para pureza.

El hierro ó acero estructural es recomendado para la construcción de tanques, el aire será escrupulosamente excluido por el purgado con el nitrógeno (preferentemente) ó dióxido de carbono en gas. Por el uso de válvulas de presión automáticas y cualquier fuente de gas apropiada, una presión constante será mantenida a lo largo del almacenamiento en el tanque. Este sistema permitirá la expansión ó contracción debida a cambios de temperatura, además de adiciones periódicas y retiro de limoneno. Kesterson J.W. y Hendrickson R. y R.J. -

Braddock (1974).

2.14. Antecedentes de baja toxicidad del d-limoneno en mamíferos.- Prous, J.R. (1978), reporta que el d-limoneno ha sido estudiado in vitro e in vivo como agente disolvente de los cálculos biliares postoperatorios en el cerdo y en ensayos clínicos. Se probó en forma de mezcla acuosa ó como combinación de d-limoneno, polisorbato 80 y monooleato de sorbitano en proporción de 97:2, 1:0.9. In vitro, la combinación resultó más eficaz que el d-limoneno en la disolución de los cálculos biliares.

Los cálculos de colesterol puro se disolvían con mayor facilidad que los pigmentos biliares y calcio, y que los de ácidos biliares y calcio. In vivo se ha comprobado (en el cerdo) que 40 ml de la mezcla disuelven eficazmente un cálculo situado en la vesícula biliar, pero que 20 ml solo son parcialmente eficaces. No se han observado efectos tóxicos en los análisis histológicos y patológicos practicados, ni en las pruebas de funcionalismo hepático. La mezcla se administró a 15 pacientes con retención de cálculos, a través del colédoco, mediante un tubo resistente de epíclorhidrina, a dosis de 20 ml a días alternos. En muchos de los pacientes, la administración repetida del fármaco disolvió eficazmente los cálculos. Disolución directa de los cálculos residuales en la colelitiasis colerética.

Toxicidad.- La LD50 por vía oral, intraperitoneal y subcutánea del d-limoneno es muy elevada, aunque la correspondiente a la vía intravenosa es extraordinariamente baja. La LD50 (rata macho): 4.4 gr/kg (p.o.); 3.6 gr/kg (i.p.); 20.2 -

gr/kg (s.c.); 125 mg/kg (i.v.)

En cuanto a reacciones secundarias solo se han observado náuseas, vómitos, diarrea y dolor abdominal.

En la Tabla 4 se da la comparación entre las LD50 oral y subcutánea (dérmica) para rata del d-limoneno y otros parasiticidas de origen vegetal así como con hidrocarburos clorados y otros.

TABLA 4. Comparación de las LD50 oral y subcutánea para rata del d-limoneno y otros parasiticidas.

PARASITICIDA	ORAL LD50 mg/kg	SUBCUTANEA LD50 mg/kg
d-limoneno	4400	20200
Belmark (Phenovalerate)	427	≥ 4300
Resmetrina	427	-
Piretrinas	1000	-
NRDC 143	1000	-
NRDC 149	250-500	-
S-5602	450	-
(Ripcord-200) Cypermetrina	242	3000
Aldrin	67	200
Aletrina	480-920	11000
Ametrina	1405	1020
Butoxido de piperonilo	7500	1880
Carbaryl	850	4000
Clordano	457-590	1000
DDT	115-250	2510
Demetron	3-10	200
Demtron metil	50-75	300-450
Desmetrina	1390	1000
Diazinon	100-150	900

Continuación TABLA 4.

PARASITICIDA	ORAL LD50 mg/kg	SUBCUTANEA LD50 mg/kg
Diclorvos	56-80	75-107
Dicofol	684-809	1870
Dieldrin	46	90
Dimetoato	250-265	700-1150
Dimite	500-1391	-
Dinocap	980-1140	9400
DNOC	25-40	200-600
Dursban	135-163	2000
Difonate	7.9-17.5	35
Endosulfan	55-220	359
Endrin	7.5-17.5	15
EPN	35-45	25-230
Ethion	179	915
Fention	215-245	320
Heptacoloro	100-162	195-250
Lindano	88-91	900-1000
Malathión	1650-2800	4100
Metomil	27	16000
Metoxicloro	1000	6000
Mevinfos	5.6-8.0	4.7-33.8
Monocrotofos	21	354
Metasystox	54	100
Metil parathión	14-24	67
Ometoato	50	700
Orthene	945	2000
Phorate	1.6-3.7	2.5-6.2
Phosphamidon	28.3	530
Rotenona	132-1500	940-3000
Tetradifón	2000-5000	10000
Toxafeno	80-90	780-1075
Triclorfón	500-630	2000

La eficiencia y equilibrio de la formulación parasiticida tiene gran influjo en su comportamiento; una mala formulación puede anular por completo la eficacia de un buen parasiticida -

Así, la toxicidad dérmica ó por contacto varía según la clase de formulación que se emplea; en la efectividad, y según propia experiencia, productos activos que como líquido -- emulsionable han resultado muy efectivos, dieron resultados -- mediocres al usarlos como polvo mojable ó para espolvoreo. Barbera, C. (1976).

2.15. Generalidades de Parasiticidas.- Los líquidos emulsionables son formulaciones líquidas que se diluyen en agua, la -- cuál se emulsionan fácilmente, dispersándose en gotas coloidales estables, es un sistema de dos fases que consta de dos líquidos parcialmente miscibles. La fase dispersa, discontinua ó interna es el líquido desintegrado en glóbulos. El líquido circundante es la fase continua ó externa.

Para su preparación se utiliza el plaguicida ó principio activo de la formulación, un emulgente y un disolvente adecuados, este ha de disolver tanto al plaguicida como el emulgente.

La emulsión debe mojar y cubrir las hojas; el agua debe separarse, y el disolvente tiene que evaporarse, dejando un depósito de plaguicida -- bien extendido y fijo.

Ejemplo de formulación emulsionable:

Clordano.....	40 por 100
Queroseno.....	55 por 100

Emulgente..... 5 por 100

2.15.1 Disolventes.- El primer punto importante en la preparación de formulaciones plaguicidas emulsionables, es la elección de un disolvente adecuado; éste debe disolver bien al plaguicida, tener un punto de inflamación (Flash point) elevado, no ser fitotóxico, ser barato y abundante, no descomponer al plaguicida y no ser corrosivo.

Los productos que suelen utilizarse con más frecuencia son los hidrocarburos aromáticos (benceno, tolueno, y xilenos en bruto), y en algunos casos el queroseno purificado.

La formulación de plaguicidas poco solubles en disolventes usuales puede requerir el uso de codisolventes. Para ello se usan algunas cetonas y disolventes clorados.

La temperatura de ebullición y la velocidad de evaporación influye en la forma del depósito residual de plaguicidas y en la estructura cristalina del mismo. En la Tabla 5 se resumen las principales propiedades de los disolventes empleados con más frecuencia en la formación de plaguicidas. Primo Y. E. y J.C. Carrasco Dorrien (1972).

TABLA 5. Principales propiedades de los disolventes utilizados en la formulación de plaguicidas.

Disolvente (1)	Peso Específico	Intervalo de destilación °C	Presión de vapor mm/Hg a 20°C	Punto de Inflamación °C
A) Hidrocarburos				
Benceno	0.880	80-81	100	10

Continuación TABLA 5.

Disolvente(1)	Peso Específico	Intervalo de destilación °C	Presión de vapor mm/Hg a 20°C	Punto de Inflamación °C
Tolueno	0.866	109-111	18	12
Xileno	0.870	137-140	10	25
Ciclohexano	0.778	80-81	77	-17
B) Cetonas				
Acetona	0.789	55-57	186	-15.6
Ciclohexanona	0.950	150-158	3	41.0
Isoforona(96%)	0.920	210-220	≤ 1	96.1
Metiletilcetona	0.805	79-80	70	- 5.6
C) Alcoholes				
Etanol (95%)	0.816	78-79	-	23.3
Isopropanol	0.790	81-83	33	17.2
Ciclohexanol	0.962	159-161	-	68.0
D) Derivados de Glicoles				
Etilen glicol etil éter	0.931	134-136	4	48.9
Dietilen glicol etil éter	0.990	198-201	-	96.1
E) Derivados Clorados				
Tricloroetileno	1.466	86-88	17	-
Tetracloruro de carbono	1.595	76-78	91	-

(1) Con el grado de pureza correspondiente al producto comercial(generalmente 99.0-99.5%).

2.15.2 Emulsiones.- Las emulsiones de aceite en agua, oleoacuosa (O-A) tienen el aceite como la fase dispersa en agua, que es la fase continúa. En las emulsiones hidrooleosa o de agua

en aceite (H-O) el agua está dispersa en aceite que es la fase externa.

El emulgente se sitúa en la interfase de los líquidos -- emulsionados de forma que su parte polar quede orientada hacia el agua y su parte grasa hacia la sustancia emulsionada.

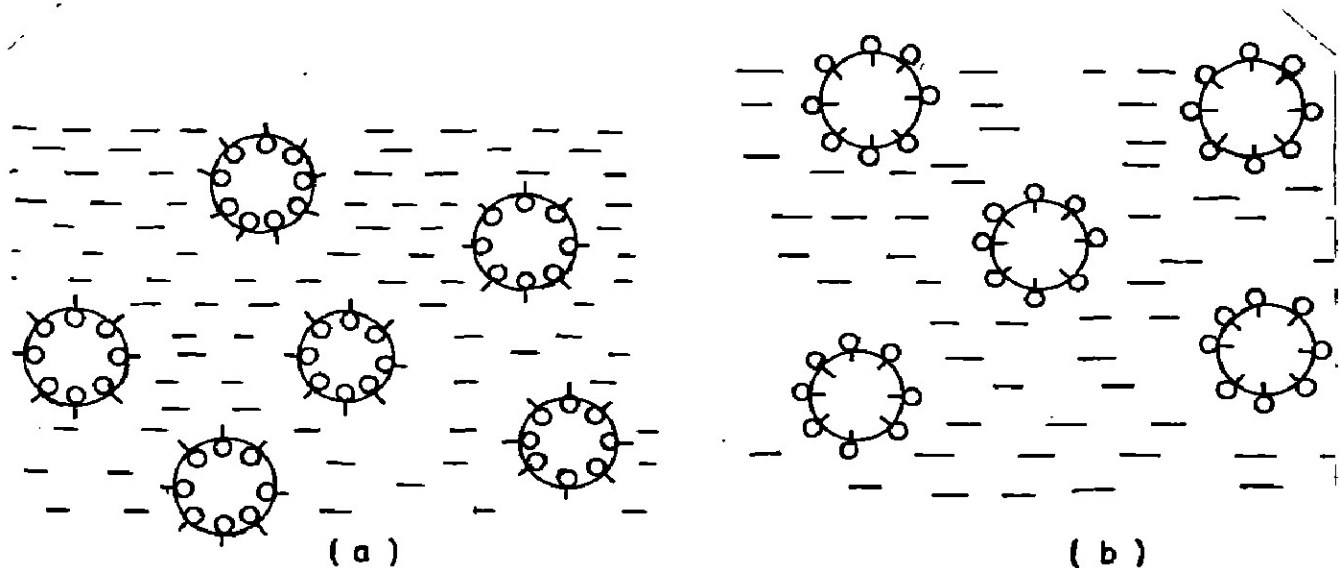


Figura 2. Esquema de la disposición de las moléculas de emulgentes en las emulsiones. a) emulsión de agua en aceite (hidrooleosa); b) emulsión de aceite en agua.: El círculo pequeño representa la parte hidrófila, y la rayita representa la parte lipófila del emulgente. Primo Y.E. y J.M. Carrasco Dorrien --- (1972).

2.15.3 Propiedades de las emulsiones.- Las que son más evidentes y por lo general más importantes son: facilidad de dilución (de ordinario con agua, aunque acaso sea con algún disolvente selectivo), viscosidad, color, estabilidad y, si se for-

ma la emulsión en el lugar donde se usa finalmente, su facilidad de formación. Para un tipo dado de emulsificación, estas propiedades dependen de lo siguiente: 1) Las propiedades de la fase contínua; 2) La razón entre la fase externa y la in-terna; 3) El tamaño de partícula de la emulsión; 4) La rela--ción entre la fase contínua y las partículas (incluso las cargas iónicas); 5) Las propiedades de la fase discontínua. En una emulsión determinada, las propiedades dependen del líquido que forme la fase externa, o de si la emulsión es oleoacusa ó hidrooleosa. El tipo de emulsión que resulte depende: - 1) del tipo y la cantidad del emulsivo; 2) de la razón entre ingredientes; 3) del orden en que se añadan los ingredientes al mezclarlos. Kirk, R.E. y Donald F. Othmer (1962).

Hay, además, una serie de factores que influeyn en la estabilidad de las emulsiones diluídas: Temperatura, agitación, orden de adición de componentes, etc. También influye la --clase de agua utilizada; generalmente se recomienda el uso de "agua dura patrón", equivalente a 35°C de dureza hidrotimérica (342 ppm expresadas en carbonato de calcio); la facilidad de "reemulsión" cuando eventualmente ha existido separación por reposo excesivo, es igualmente factor importante. Barbe--ra, C. (1976).

Las experiencias empíricas para determinar las mezclas óptimas de emulgente se realizan, para cada formulación (pla--guicida, concentración y disolvente), probando mezclas seriadas de aquellos y ensayando la facilidad de dispersión y la estabilidad de la emulsión formada. Por lo general son ade--

cuadas mezclas de dos, tres ó cuatro emulgentes.

En general, es necesario mezclar emulgentes lipófilos - con otros más hidrófilos.

Como criterio orientador para la selección y mezcla de emulgentes, se ha establecido un índice estructural de relación entre su carácter hidrófilo ó lipófilo, conocido como - BHL (balance hidrófilo-lipófilo) actualmente es el mejor indicador de cierto índice de la estabilidad de la emulsión. El BHL indica el porcentaje en peso de la parte hidrófila -- que contiene un emulgente no-iónico. A un emulgente no iónico que fuera un 100 por 100 hidrófilo le correspondería un - BHL teórico de 100. Sin embargo, para trabajar con números -- más pequeños, los valores teóricos se dividen por cinco y de esta forma la escala de BHL recorre del 0 al 20. Los emul-- gentes con BHL bajos (alrededor de 5) son solubles en acei-- tes, y los que tienen BHL altos (alrededor de 15) son solu-- bles en agua. Como se ejemplifica en la Tabla 6.

TABLA 6. Relación entre la solubilidad ó dispersabilidad en agua y el BHL de los emulgentes.

Solubilidad ó dispersabilidad	BHL
Solución clara	>13
Dispersión clara ó traslucida	10 a 13
Dispersión lechosa estable	8 a 10
Dispersión lechosa tras agitación vigorosa	6 a 8
Dispersión escasa	5 a 6
No dispersable	1 a 4

Para obtener emulsiones estables, del tipo aceite en agua, son necesarios emulgentes que tengan el BHL adecuado al producto lipófilo de que se trate. En la Tabla 7 se indican los BHL necesarios para diferentes compuestos orgánicos.

TABLA 7. Balance hidrófilo-lipófilo (BHL) del emulgente necesario para obtener emulsiones del tipo aceite en agua de los compuestos indicados.

COMPUESTO	BHL
Acido oleico	17
Alcohol cetílico	15
Benceno	15
Ciclohexano	15
Queroseno	14
Lanolina	12
Aceite mineral	10
Tolueno	15
Xileno	14

Cuando no se dispone del emulgente que posea el BHL adecuado puede conseguirse una buena emulsión mediante una mezcla de dos emulgentes (A y B), de distinto BHL, en proporciones adecuadas:

$$\text{Porcentaje de A} = \frac{100(x - \text{BHL}_B)}{\text{BHL}_A - \text{BHL}_B}$$

$$\text{Porcentaje de B} = 100 - \% \text{ A}$$

siendo x el BHL necesario para conseguir una buena emulsión. Primo, Y.E. y J.M. Carrasco Dorrien (1972).

Los emulgentes que se utilizan para la preparación de -- formulaciones plaguicidas emulsionables son compuestos tenso-activos, con frecuencia se usa incorrectamente el término --- emulsivo. Los emulsivos forman un grupo de la clase general- de agentes de actividad superficial.

Para los fines de este artículo puede definirse los agentes de actividad superficial, también llamados agentes tenso-activos por su comportamiento en solución acuosa diluída. Tales soluciones mojan fácilmente las superficies, eliminan la- suciedad, penetran en los materiales porosos, dispersan las - partículas sólidas, emulsifican aceites y grasas y producen - espuma al ser agitadas ó sacudidas, los agentes de actividad- superficial se describen también como humectantes, detergen-- tes, penetrantes, dispersantes, emulsivos, etc., y no se cono- ce ningún agente tensioactivo que posea una de ellas con exclu- sión de todas las demás. En casi todos los agentes de super- ficie activa predomina una propiedad sobre las otras, y esa - propiedad determina la clasificación del compuesto y su campo de aplicación.

2.15.4 Clasificación.- Los agentes de actividad superficial se ---- dividen en dos clases, según el carácter de sus soluciones co- loidales en agua. Los que pertenecen al primer grupo son los agentes iónicos de actividad superficial; que forman iones en solución y los compuestos del segundo grupo, que se llaman --

no-iónicos, por que no se iónizan, debiendo su solubilidad al efecto combinado de cierto número de grupos solubilizantes débiles, tales como los enlaces etéreos o los grupos hidroxilos de sus moléculas.

El grupo iónico se subdivide teniendo en cuenta el comportamiento de sus miembros en la ionización, si resulta cargada negativamente, se clasifica el compuesto como un agente de actividad superficial aniónico, si por el contrario resulta cargado positivamente se clasifica como agente de actividad superficial catiónicos. Kirk, R.E. y Donald F. Othmer. - (1962).

Dentro del grupo de los agentes de actividad superficial aniónicos en general son de ó derivados de: a) jabones sódicos. b) jabones de aminas, c) sulfonatos, d) sulfatos de --- aquilo. Dentro del grupo de los agentes de actividad superficial catiónicos son: a) sales alifáticas de amonio cuaternario, b) sales cuaternarias de heterociclos alcoholados. Dentro del grupo de los agentes de actividad superficial no-iónicos son: a) esterés de polialcoholes, y especialmente de sorbitol ó sorbitan y b) polioxietilenderivados, obtenidos por reacción del óxido de etileno con alcoholes, ácidos grasos, aminas y amidas alifáticas, alquilfenoles ó sorbitol y sus esterés, etc.

Al formular plaguicidas emulsionables, es conveniente recomendar la posibilidad de que compuestos aniónicos y catiónicos de cadena larga, como jabones y sales de amonio largas -- precipitan al estar en contacto.

En la elección del emulgente adecuado debe tenerse también en cuenta la posibilidad de que reaccione con el plaguicida.

Una acción importante de los tensoactivos en las formulaciones es la de contribuir a la extensión de las gotas sobre las hojas, a su permanencia ó a su posterior absorción. La energía de superficie de la gota tiende a mantenerla esférica, y en esta forma puede caer ó rebotar si en la aspersión es proyectada con un impacto y un ángulo de incidencia superior al límite (Figura 3-b). La disminución de la tensión superficial, por los agentes tensoactivos añadidos disminuye el ángulo de contacto entre la gota y la hoja, hace que aquella se extienda y adhiera sobre ésta. (Figura 3-a). Primo V.E. y J. M. Carrasco Dorrien (1972).

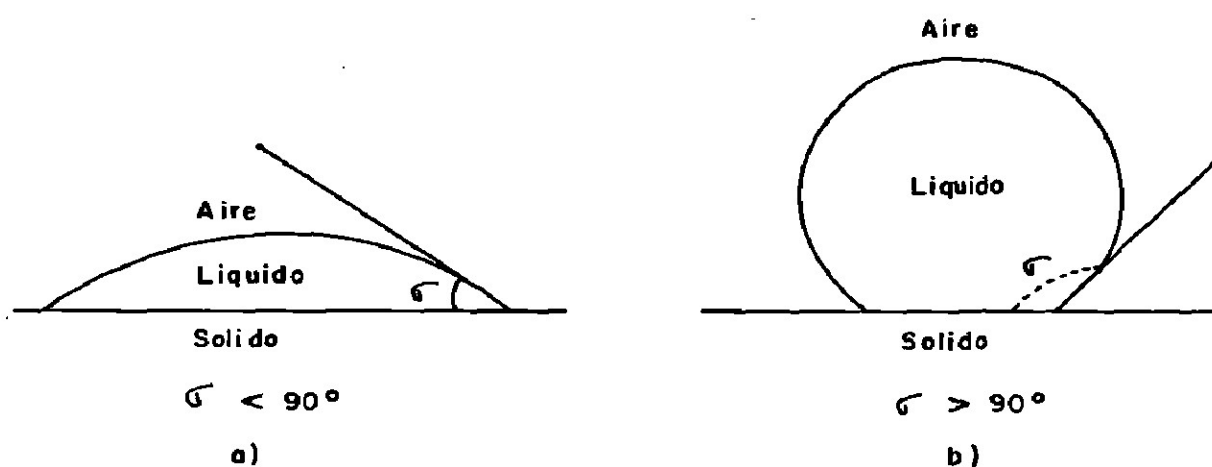


Figura 3. a) Ángulo de contacto (σ) de una gota de líquido con tensoactivo; b) sin tensoactivo.

La tensión superficial se mide en ergios/cm² ó en dinas/cm², midiendo bién el trabajo realizado en ergios para aumentar la superficie en un cm² ó la fuerza que se precisa para vencer la resistencia intrínseca expresada en dinas por centímetro; ambas expresiones son equivalentes.

Si un líquido se extiende sobre una superficie (sólida ó líquida) se invierte un trabajo en la creación de nuevas superficies: la del líquido que se extiende y la mojada, venciendo las tensiones superficiales correspondientes, aunque disminuídas en el valor de la tensión interfacial entre ambas.

Si el líquido que moja difiere de la superficie mojada (líquida ó sólida) se establece entonces un "coeficiente de mojabilidad" cuyo valor es la diferencia entre los trabajos de adherencia y cohesión.

Las tensiones superficiales de los líquidos pueden ser determinadas experimentalmente, y en muchos casos se dispone también de datos directos sobre la tensión interfacial entre líquidos; por las medidas de los coeficientes de mojabilidad y muchas tensiones interfaciales solo pueden ser deducidas mediante cálculos. (La tensión superficial de sólidos no es conocida directamente, sino solamente asequible por cálculo, -- los valores que se obtienen están sujetos a muchos factores -- influyentes por modificar el estado de la superficie y la tensión existente).

A continuación en la Tabla 8 se citan las tensiones superficiales, y coeficientes de mojabilidad respecto al agua --- con distintos solventes.

TABLA 8. Tensiones superficiales respecto al aire y agua expresadas en ERGIOS/cm² y coeficientes de mojabilidad respecto al agua con distintos solventes.

	Tensiones Superficiales		Coeficiente de mojabilidad Respecto al agua
	Respecto aire	Respecto agua	
Agua	72.8	-	-
Benceno	28.8	35.0	8.94
Tolueno	28.5	36.1	8.20
Xileno ¹	28.3-30.1	36.0	6.8
Tetracloruro de carbono	26.95	45.0	1.14
Hexano normal	18.43	51.1	3.27
Heptano normal	20.10	51.0	1.70
Octano normal	21.8	50.8	0.22
Alcohol n-octílico	27.53	8.5	36.75
Acido oléico	32.5	15.59	24.71
Ciclohexanol	34.3	9.3	34.8
Butanoles ²	20.7-24.6	-	-
Metanol	22.61	-	-
Etanol	22.3	-	-
Ciclohexano	25.3	-	-
Isopropanol	21.7	-	-
Formamida	58.2	-	-

1.- Los valores individuales dependen de los isómeros o^- , m^- , op^-

2.- Los valores individuales dependen de la clase de alcohol; normal, secundario ó terciario.

MATERIALES Y METODOS

Los experimentos se realizarón en el laboratorio de Cría Masiva de Insectos de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León, ubicada en la carretera Zuazua-Marín Km 17, Marín, Nuevo León.

Se utilizó una cría de Heliothis virescens (Fabricius) - que proporcionó el laboratorio de Cría Masiva de Insectos, la propagación de la cría se llevó a cabo usando la dieta Shorei modificada (tabla 9) incorporando aproximadamente 5 ml de dieta en vasos de plástico para gelatina del # 1, posteriormente se taparón con otro vaso de plástico pero sin dieta, uniendolos con cinta adhesiva.

TABLA 9. Dieta Shorei modificada

Agua destilada	3000 ml
Harina de soya	241.8 gr
Gérmen de trigo	108 gr
Sal Wesson's	36 gr
Azúcar (morena)	43 gr
Para-metil-hidroxi benzoato	5.4 gr
Acido sórbico	3.24 gr
Acido ascórbico	14.4 gr
*Aureomicina	0.48 gr
KOH (22%)	18 gr
**Solución vitamínica	12 ml
Cloruro de colina (15%)	24.9 ml
Formaldehído (10%)	15.0 ml
Acido acético (25%)	39.9 ml
Agar-Agar	34.8 gr

*Aureomicina grando veterinario.

**Contiene las siguientes vitaminas por mililitro de agua: Pantothenato de calcio, 12 mg; niacina, 6 mg; riboflavina, 3 mg; ácido fólico, 3 mg; tiamina HCl, 1.5 mg; pyridoxina HCl, 1.5 gr; biotina, 0.12 mg; B12, 0.0006 mg.

La preparación de la dieta se realizó de la siguiente manera: En un recipiente con capacidad de 3L. se depositaban todos los sólidos, pesándolos en una balanza analítica digital - Sartorius, después en una probeta de 1L. se medía 1.5L. de agua destilada, a esta cantidad se le restaba la cantidad de líquidos por agregarse y se agregaba a los sólidos, posteriormente se agitaba con una espátula para homogenizar.

La preparación del agar-agar se hacía con el 1.5L. restante, restándole la cantidad de agar utilizado al 1.5L., esta cantidad de agar se pesaba en la misma balanza y el agua destilada se calentaba para después agregar el agar-agar y dejándolo calentar a 80°C, pero con agitación constante.

Para finalizar la preparación, a la mezcla de sólidos se le agrega el agar en solución y se toma la temperatura que sea inferior a 60°C y se agrega la solución vitamínica y el cloruro de colina.

Para vertir la dieta a los vasos de gelatina del #1, se utilizaron recipientes de plástico, comúnmente usados para mayonesa y mostaza.

Para la propagación de los adultos, al finalizar el estado larval, las pupas eran colectadas de los vasos de plástico con dieta Shorei modificada y para la identificación sexual de las pupas se observaban bajo estereoscopio, presentando las pupas de machos dos protuberancias nodulares y las hembras una hendidura en la parte ventro caudal de la pupa. Posteriormente las pupas sexadas se dispusieron en cámaras de oviposición-

en una proporción 2:1 (hembra-macho).

Los adultos fuerón alimentados con una dieta líquida que consistía en dos partes de miel de abéja, una parte de solución vitamínica, un gramo de aureomicina, un gramo de para-metil-hidroxi benzoato y las siete partes restantes de agua destilada, homogenizandose con agitación y suministrada mediante una base de algodón en recipientes pequeños.

Los huevecillos se colectaban en una manta que servia a + vez como tapa de la cámara de oviposición y se mantenían provisionalmente en una cámara de eclosión; recién nacidas las larvas se colocaban en los vasos con dieta Shorei.

De la cría se emplearón larvas de primer y tercer instar para realizar pruebas de mortalidad con el extracto de la cáscara de naranja (d-limoneno). Las pruebas ó bioensayos se llevaron a efecto haciendo aplicaciones dérmicas.

El primer bioensayo consistió en una aplicación tópica -- con d-limoneno al 92% a larvas de primer instar, consistiendo este experimento de cinco repeticiones con 25 individuos por unidad experimental, haciendo una aplicación de 0.20 μ l con una micropipeta Hamilton de 10 μ l., el testigo consistió de una aplicación tópica de agua destilada con el mismo número de repeticiones y de individuos.

El segundo y tercer bioensayo consistieron en determinar la dosis letal media en larvas de primer instar de Heliothis virescens Fabricius. En el segundo bioensayo se utilizó 7 tratamientos consistentes en 6 diferentes concentraciones de d-li

moneno -50, 25, 12.5, 3.125, 2.312 y 1.5 por ciento- y un testigo en el cual se aplicó aceite mineral en igual cantidad aplicada a los insectos prueba, ya que el aceite mineral se usó como diluyente para obtener las concentraciones a probar.

El tercer bioensayo se efectuó de forma similar, con el mismo número de tratamientos y variando solo las concentraciones de d-limoneno -50, 18, 12, 5, 9, 6.25 y 5 por ciento- además del testigo, que se le aplicó alcohol etílico grado reactivo, por ser este el diluyente empleado en este bioensayo. La cantidad empleada para las aplicaciones tópicas por individuo- para todos los tratamientos del segundo y tercer bioensayo fué de $0.2\mu\text{l}$.

Para ambos bioensayos se usaron seis repeticiones por separado, con 20 individuos por repetición y los resultados se analizaron por probit.

El cuarto bioensayo tuvo como objetivo la determinación de la dosis letal media (LD_{50}) para larvas de tercer instar, este consistió de siete distintas dosis aplicadas (de $0.4\mu\text{l}$ a $2.0\mu\text{l}$) cada una con seis repeticiones y cada repetición con 20 individuos. Al testigo se le aplicó alcohol etílico grado --- reactivo y con $2\mu\text{l}$. por individuo, este también se analizó por probit.

Para la toma de los datos se observaron las larvas tratadas bajo un estereoscopio, considerandole muerta a la larva -- sin ningún movimiento. Los datos se tomaron aproximadamente a una hora después de la aplicación.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados a continuación se presentan en forma desglosada para su mejor explicación y consisten en 4 bioensayos que enseguida se enuncian:

4.1 El primer bioensayo, en el que se aplicó $.2\mu\text{l}$ de d-limoneno en forma tóptica y con 92% de concentración, la mortalidad que presentaron larvas de primer instar de Heliothis virescens Fabricus, fué de 100%, debido a esto no fué necesario realizar análisis estadístico.

4.2 En un segundo bioensayo utilizando d-limoneno con dosis de $0.2\mu\text{l}$ y aceite mineral, con concentraciones de 50,25,12.5,-3.125, 2.312 y 1.5 por ciento se obtuvieron mortalidades del 98.33, 66.67, 61.67, 60.83, 57.50 y 35 por ciento respectivamente.

Mediante análisis probit de los porcentos de mortalidad correspondientes a las diferentes concentraciones, se estimó la dosis letal media -LD₅₀- en 2.74% de concentración de d-limoneno en larvas de primer instar de H. virescens.

4.3 En el tercer bioensayo realizado con larvas de H. virescens y aplicando d-limoneno con dosis de $0.2\mu\text{l}$ diluido con alcohol etílico -grado reactivo- con concentraciones de: 50,18,12.5, 9, 6.25 y 5 por ciento, se obtuvieron porcentajes de mortalidad de 98.33, 97.5,94.16, 59.17, 48.33 y 21.67 respectivamente estimandose la LD₅₀ en 6.35% de concentración de d-limoneno.(Ver apéndice.)

4.4 Finalmente en un cuarto bioensayo, empleando larvas de -- tercer instar de H. virescens y con una concentración del 92% de d-limoneno sin diluyente y variando las cantidades de aplicación tópica correspondientes a 0.4, 0.8, 1, 1.2, 1.4, 1.8 y 2 μ l., resultaron porcentajes de mortalidad de: 30, 37.5, 56.67, 60, 65.83, 77.5 y 82.5, respectivamente. Obteniéndose la LD₅₀ en 0.918 μ l.(Ver apéndice.)

4.5 Referente a los testigos empleados para cada bioensayo, - cabe señalar lo siguiente: En el primer bioensayo se usaron - testigos con aplicaciones de agua destilada con la misma dosis.

En el segundo bioensayo se empleo el diluyente -aceite mineral- para los testigos con igual cantidad a la dosis empleada. En el tercer bioensayo se efectuó de la misma forma, pero con alcohol etílico.

En el cuarto bioensayo se aplicó 2 μ l. de alcohol etílico- grado reactivo- al testigo y para cada uno de los bioensayos - las larvas testigo de H. virescens no presentaron mortalidad - alguna.

4.6 Referente al primer bioensayo, en el que se obtuvo 100% - de mortalidad con dosis dérmica de 0.2 μ l y con una concentra-- ción del 92% de d-limoneno, no fué posible establecer la LD₅₀- para larvas de primer instar, dado que dosis más pequeñas no - son posibles de aplicar. Esto dio pauta para realizar el se-- gundo y tercer bioensayo en los cuales se hizo necesario dilu- ir el d-limoneno para establecer la LD₅₀.

4.7 Dilucidando los resultados obtenidos es relevante señalar que, comparativamente entre la LD₅₀ del segundo y tercer bioen

sayo se enmarca una diferencia significativa, esto puede explicarse dado que en el segundo bioensayo el diluyente empleado - fué aceite mineral, mientras que en el tercerò fué alcohol etílico.

El aceite mineral desempeña un papel de sinergista, ya -- que por si mismo posee propiedades fungicidas, acaricidas e insecticidas como lo señala Barberá C. (1976), mientras que el - alcohol etílico resultó indiferente según Barberá C. (1976) y - demostrado por la diferencia en mortalidad para ambos bioensayos.

4.8 Comparativamente entre el primer y cuarto bioensayo se demostró que al incrementarse el desarrollo larval disminuye la - susceptibilidad al d-limoneno, como ha ocurrido anteriormente - con otros productos químicos y de control microbial Matsumura - F. (1975).

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

En el primer bioensayo se aplicó 0.2 μ l de d-limoneno al 92% de concentración y en forma tópica, presentándose un 100% de mortalidad, esto sirvió como parámetro para conocer la toxicidad del producto, dando además base para un segundo bioensayo en el cual por medio de diluciones poder determinar la LD₅₀ del producto.

En el segundo bioensayo se utilizó d-limoneno al 92% de concentración y empleando aceite mineral como diluyente, aplicándose una dosis de 0.2 μ l y con concentraciones que variaron del 50 al 1.5 por ciento de d-limoneno a larvas de primer instar de Heliothis virescens (Fabricius) estimándose una LD₅₀ de 2.74% de concentración de d-limoneno.

Un tercer bioensayo se efectuó aplicando 0.2 μ l de d-limoneno al 92% en concentraciones que variaron del 50 al 5 por ciento de d-limoneno y empleando alcohol etílico grado reactivo como diluyente, estimándose una dosis letal media de 6.35% de d-limoneno para larvas de primer instar de H. virescens (F.)

Se concluye en cuanto a la LD₅₀ del segundo y tercer bioensayo, que existe una diferencia significativa, entre estas, esto se explica dado que en el segundo bioensayo el diluyente empleado fué aceite mineral, mientras que en el tercero fué alcohol etílico. El aceite mineral desempeña un papel de sinergista, ya que por sí mismo posee propiedades insecticidas como lo señala Barberá C. (1976), mientras que el alcohol etílico resultó indiferente y demostrado por la diferencia en mortali-

dad para ambos bioensayos.

A partir de esto y comparativamente con las dosis letal media reportadas por Twine P.H. and H.T. Reynolds (1980) para fenovalerate, permetrina y metil paratión cuyas LD₅₀ respectivas son 2.20, 1.93 y 38.51 µg/gr aplicados a una dosis de ---- 0.5µl a larvas de Heliothis virescens (F.) y las reportadas -- por Brown, Thomas M, K. Bryson and Gregory T. Payne (1982) para, metil parathion, sulprofos, profenofos, permetrina y fenovalerate durante los años de 1978 a 1980 aplicados en 1µl/larva. La LD₅₀ de d-limoneno obtenidas en el segundo y tercer -- bioensayo, resulto menos tóxico en comparación con los trabajos de Twine y Reynolds así como de Brown, Tomas. Bryson y --- Payne en pruebas con otros insecticidas, sin embargo la cantidad empleada por ellos para cada larva es relativamente mayor y obtiene una mejor cobertura.

En el cuarto bioensayo se emplearon larvas de tercer instar de H. virescens (F.) aplicandose d-limoneno con una concentración del 92% sin diluyente y variando las cantidades de 0.4 a 2.0µl, estimándose para este bioensayo una LD₅₀ de 0.918µl. También comparando este resultado con lo reportado por Twine - P.H. and H.T. Reynolds (1980) y Brown, Thomas M, Karen Bryson and Gregory T. Payne (1982) respecto a otros insecticidas sintéticos la LD₅₀ del d-limoneno resulta ser mayor. Esto es que insecticidas como paration metílico, fenovalerate, permetrina, sulprofos y profenofos resultan de 3 a 5 veces más activos que el d-limoneno.

Las dosis letal media obtenidas en este estudio demues---

tran la toxicidad del d-limoneno en larvas de Heliothis virescens (Fabricius), así también las dosis empleadas y lo reportado por Garrido Santiago Isaac (1985) sugieren un posible uso en aplicaciones a ultra bajo volúmen (UBV) en plagas de granos almacenados.

Es recomendable efectuar un estudio para obtener y comparar las LD₅₀ del d-limoneno y otros insecticidas de uso actual tanto en pruebas dérmicas, como de inhalación ya que como se señaló en la literatura revisada, el d-limoneno posee una alta presión de vapor, por lo que se sitúa en un producto con buena acción de choque, así como efectuar pruebas de campo para corroborar la LD₅₀ y estimar con exactitud la concentración a la cual ocasiona fitotoxicidad ya que lo comunicado por Núñez Ramos C. (comunicación personal) es de que el d-limoneno a concentraciones superiores al 50% causa problemas de fitotoxicidad.

También es recomendable al hacer la formulación del plaguicida, el empleo de agentes de actividad superficial no iónicos (esteres de polialcoholes, polioxietil derivados, aminas y amidas alifáticas) ya que esta presentaría una buena facilidad de dilución, buena viscosidad, buen color, buena estabilidad, como lo comunicó Ochoa Gómez C. y Núñez Ramos C. (comunicación personal).

A más largo plazo es recomendable realizar trabajos sobre la comercialización del d-limoneno como un insecticida. Así como también posteriores trabajos con plagas de tipo médico y veterinario, debido a su muy baja toxicidad a mamíferos.

RESUMEN

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Cría Masiva de Insectos de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León. El estudio consistió en cuatro bioensayos para determinar la dosis letal media (LD_{50}) a larvas de gusano Bellotero Heliothis virescens (Fabricius) utilizando como insecticida d-paramenta 1,8-dieno-1-metil-para-iso-propenil-1-ciclohexano (d-limoneno).

El primer bioensayo consistió en una aplicación tópica con d-limoneno al 92% de concentración a larvas de primer instar, consistiendo de una dosis única de $0.2\mu l$, con 5 unidades experimentales de 25 individuos por cada una de ellas, además el testigo consistió de una aplicación tópica de agua destilada con el mismo número de unidades experimentales y de individuos. La mortalidad obtenida fué del 100%, debido a esto no se realizó análisis estadístico.

El segundo y tercer bioensayo, consistieron en determinar la dosis letal media en larvas de primer instar de H. virescens (F.) El segundo bioensayo consistió de 6 diferentes concentraciones de d-limoneno que van del 50 al 1.5% con 98.33 y 35% de mortalidad respectivamente de d-limoneno y un testigo que consistió en aceite mineral aplicado en igual cantidad aplicada de d-limoneno a los insectos prueba, se obtuvo por medio de análisis probit una LD_{50} de 2.74% de d-limoneno. El tercer bioensayo se efectuó en forma similar variando solo las concentraciones de d-limoneno, de 50 a 5% con 98.33 y 21.67% -

de mortalidad respectivamente, además del testigo, que se le aplicó alcohol etílico grado reactivo, ya que este fué el diluyente empleado en este bioensayo, empleando también el análisis probit se obtuvo una LD_{50} igual a 6.35%. La cantidad empleada para las aplicaciones tópicas por individuo para todos los tratamientos del segundo y tercer bioensayo fue de $0.2\mu l$.

En el cuarto bioensayo se emplearon larvas de tercer instar de H. virescens y d-limoneno con una concentración del 92% sin diluyente y variando las cantidades de aplicación tópica que van de 0.4 a $2\mu l$ resultando en porcentajes de mortalidad del 30 al 82.5% respectivamente, el testigo consistió en la aplicación de $2\mu l$ de alcohol etílico grado reactivo en igual número de repeticiones y de individuos. La dosis letal media (LD_{50}) se estimó en $0.918\mu l$.

BIBLIOGRAFIA

- Ambriz Palma, J. 1975 . Combate de plagas del algodnero en -
la Comarca Lagunera. CIANE Circular N° 63 INIA, SAG, CIA-
NE, Jul. 1975. México, D.F. p. 8
- Barberá, Claudio. 1976 . Pesticidas Agrícolas. Ed. Omega, ---
3era. edición Barcelona, España. pp. 24-25.
- Bomier, G. y O. Tedin 1966 . Bioestadística, Ed. Acribia, Méxi-
co, D.F. pp. 62-65; 169-180.
- Bouille Almada, L. 1975 . Gusano bellotero, III Simposio Nacio-
nal de Parasitología Agrícola, I.A.P.A.C. p. 157.
- Braverman, J.B.S. 1952 . Los agrios y sus derivados, composi-
ción y tecnología química. Ed. Aguilar, S.A. Madrid, Espa-
ña. pp. 43-49 y 64-65.
- Brown, Thomas, Karen Bryson and Gregory Y. Payne. 1982 . Pyre-
throid suceptibility in methyl parathion-resistant Toba-
cco budworm in South California. Vol. 75. April 1982. N°2
pp. 301-304.
- Busvine, R.J. 1971 . Techniques for testing insecticides.
Commonwealth Agricultural Bureaex. Great Britain, pp. 270-
-277.
- Coronado, R. y A. Márquez 1982 . Introducción a la Entomología
Morfológica y Taxonomía de los Insectos. 7a. reimpresión.
Ed. Limusa, México. pp. 32-34 y 72.
- Cremlyn, R. 1982 . Plaguicidas modernos y su acción bioquími-
ca. Ed. Limusa, México, D.F. pp. 323-329, 144-146.
- De Ong, E.R. 1956 . Chemistry and uses of pesticides. Reinhold
Publ. Nueva York. pp. 94-96.

- De Bach, P. 1977 . Lucha biológica contra los enemigos de las plantas. Ediciones MundiPrensa, Madrid, España. pp. 19-31; 339.
- Donald E., H. y Ph.D. Frear 1955 . Chemistry of the pesticides. D. Van Nostrand Company. Inc. N.Y. pp. 20; 419-428.
- Durán Pompa, Hector Abel 1981 . Apuntes de Control Integrado de Plagas. Facultad de Agronomía, U.A.N.L. Marín, N.L. pp. 1-35.
- Finney, D.J. 1977 . Probit Analysis 3th. Ed., Cambridge University. Press London, pp. 8-38,
- Fieser Louis, F. y Mary Fieser 1960 . Química Orgánica Ed. -- Grijalbo, pp. 1133-1135.
- Garrido Santiago Isaac 1985 . Pruebas de toxicidad de un nuevo insecticida sobre Sitophilus granarius (L.) Tesis ingeniero agrónomo parasitólogo. Facultad de Agronomía, Marín N.L. pp. 22-26.
- Gómez, Ochoa, C. 1978 . Efectos de cortes alternados en alfalfa sobre las poblaciones de chinche lygus en algodónero - en Mexicali, B.C. Folia Entomológica Mexicana, XIII Congreso Nacional de Entomología. Núm. 42, Nov. 1979. p.43.
- González Rodríguez, E. 1980 . Determinación del período crítico de combate químico de la Conchuela del frijol en el Valle de Guadiana, Dgo. Folia Entomológica Mexicana, XIV -- Congreso Nacional de Entomología Núm. 43, pp. 59-60.
- J. Borror, D. y R.E. White 1970 . A field guide to the insects of America North of México. Houghton Mifflin Company. Boston. pp. 218, 222, 228, 238.

- Kesterson J., W., Hendrickson R. y R.J. Braddock 1975 . Florida Citrus Oil. Agricultural Experiment Stations. Institute of Food and Agricultural Sciences. University of Florida, Gainesville J.W. Sites, Dean for Research. pp. 6, 57,-82, 90, 105, 107, 121, 141, 145, 149-157.
- Kirk E., Raymond y Donald F. Othmer 1962 , Enciclopedia de la Tecnología Química. Ed. Uthea, México, D.F.
 Vol. 1 pp. 61-67
 Vol. 6 pp. 380; 869-895
 Vol. 14 pp. 894-927
 Vol. 15 pp. 129-132 y 144-150.
- León López, R.L. 1973 . Prueba para dosificación del Galecrón 50-E contra gusano bellotero del algodón en la costa de - Hermosillo. CIANO Informa, año II Núm. 8; p. 1
- _____ 1974 . Evaluaciones de Insecticidas contra larvas de -- Heliothis virescens (Fabricius) en Laboratorio. Folia Entomológica Mexicana XIII Congreso Nacional de Entomología Núm. 42 Nov. 1979. p. 43.
- _____ 1980 . Evaluaciones de insecticidas contra plagas de -- Heliothis virescens (Fabricius) en laboratorio. Folia Entomológica Mexicana XIII Congreso Nacional de Entomología Núm. 43 Nov. 1979. p. 73.
- _____ 1980 . Evaluación de insecticidas contra plagas del garbanzo en el Valle del Yaqui, Sonora, Folia Entomológica - Mexicana. XIV Congreso Nacional de Entomología. Núm. 43 - Feb. 1980. pp. 61-62.
- Loya Ramírez, J.L. 1980 . Plagas del algodnero en Morelos. Folleto Técnico N° 2. SARH, INIA, CIAMC, México, D.F.

pp. 9-14.

- Marchain, L.M. 1972 . Principales plagas de los cultivos del Valle de Mexicali y sus enemigos naturales. Folleto Técnico N° 57. SAG, INIA. Abril 1974. México, D.F. p. 18.
- Margalef, R. 1977 . Ecología. Ed. Omega, Barcelona, España. pp. 805-809.
- Matsumura, Fumio 1975 . Toxicology of insecticides. Plenum Press. New York, N.Y. pp. 7; 17-23.
- Mendoza Mendoza, R. 1974 . Como producir más cártamo por hectárea en Sonora, CIANE, SAG, INIA, México, D.F. p.8.
- Morrison, R.T. y Robert N. Boyd 1973 . Química Orgánica. Fondo Educativo Interamericano. pp. 285-286.
- Nieto Garza, A. 1975 . El bellotero en el cultivo del algodón, III. Simposio Nacional de Parasitología Agrícola. Guanajuato, Guanajuato, I.A.P.A.C. pp. 171-174.
- Núñez Ramos, Cuauhtémoc 1983 . Apuntes de Entomología Económica II. Facultad de Agronomía, U.A.N.L. Marín, N.L.
- Ochoa Gómez, C. 1983 . "Actividad de la cepa GM-1 de Bacillus thuringiensis Berliner en Spodoptera frugiperda (Smith)." Tesis ingeniero agrónomo parasitólogo. Facultad de Agronomía, U.A.N.L. Marín, N.L. pp. 111-116.
- Padrón, Treviño, J.A. 1975 . El combate de los insectos en la conservación de la calidad y aumento de la producción de jitomate. III Simposio Nacional de Parasitología Agrícola. I.A.P.A.C. p. 95.
- _____ 1980 . Efectividad de algunas variedades sintéticas de-

- insecticidas comerciales contra gusanos (Heliothis y Spo-
doptera) en garbanzo en Sinaloa. Folia Entomológica Mexi-
cana. XIV Congreso Nacional de Entomología. Núm. 43 p.59.
- Paracoran, J.C. 1977 . Agrios, técnicas agrícolas y producción
tropical. Ed. Blume, Barcelona, España. pp. 419-427.
- Pérez Espinoza, F. 1980 . Profenofos, insecticida bromofosfo-
rado en el control de plagas del cultivo del tabaco. Fo-
lia Entomológica Mexicana. XIV Congreso Nacional de Ento-
mología, Núm. 43 p. 59.
- Prado Martínez, R. 1981 . La investigación en el algodónero -
en México y su efecto sobre la producción de ésta fibra.
Publicación especial Núm. 80 SARH-INIA. Simposio Nacional
de la Investigación Agrícola. p. 52.
- Primo Y. E. y J.M. Carrasco Dorrien 1972 . Química Agrícola -
Vol. II pp. 33-35; 45-51; 57-79. Ed. Alhambra, España.
- Prous, J.R. 1978 . d-limoneno, medicamentos de actualidad ---
Vol. XIV N° 9 p. 402.
- Said Infante, G. y Luz del Carmen Calderón 1980 . Manual de -
análisis probit. Colegio postgraduados. Chapingo, México
pp. 4-11 y 94-96.
- SARH-Dirección General de Sanidad Vegetal 1983 . Manual de --
plaguicidas autorizados para 1984. México, D.F. pp. 26,
50, 56, 65, 76, 80, 113, 121 y 122.
- SARH-INIA 1981 . Algodonero, logros y aportaciones de la in--
vestigación agrícola en la Región Lagunera, Pub. esp. N°1
p. 11.
- Sifuentes, A. A. 1977 . Plagas de algunas hortalizas en Méxi-

co. Folleto de divulgación N° 53. INIA-SARH. México, D.F.
primera reimpresión corregida y aumentada pp. 6-27.

Silguero, J.F. 1980 . Comportamiento de líneas de algodónero-
al ataque de gusano bellotero Heliothis spp. en el sur de
Tamaulipas. Folia Entomológica Mexicana. XIV Congreso Na-
cional de Entomología. Núm. 43 p. 67.

Treviño Martínez, José de Jesús 1983 . Apuntes de Entomología
Económica I. Facultad de Agronomía, U.A.N.L. Marín, N.L.
Apuntes no publicados.

Twine P.H., and H.T. Reynolds 1980 . Relative susceptibility-
and resistance of the Tobacco Budworm to metil parathion-
and synthetic pyretroids in Southern California. Vol. 73
April 1980. N° 2. pp. 239-242.

Villanueva, H.S. 1977 . Plagas del algodón y su control en el
Valle de Apatzingan. Circular CIAB N° 59. INIA-SARH-CIAB.
México, D.F. p.4.

A P E N D I C E

TABLA 1. Determinación de la dosis letal media (LD₅₀) de d-limoneno en el segundo bioensayo usando al aceite mineral como diluyente.

Dosis (% de d-limoneno)	Nº de larvas usadas (N _i)	Nº de larvas muertas (r _i)	Proporción de respuestas $\frac{r_i}{n_i}$	$\log_{10} \frac{D_i}{(X_i)}$	Probit (Y _i)	Probit estimado $\hat{Y} = \hat{\alpha} + \hat{\beta}x$	Limite de confianza $\hat{Y} = LD_{50} \pm t_{95}(Sw)$
						\hat{X}_i \hat{Y}_i	Sup. Inf.
50	120	118	93.33	1.6989	7.14	1.6989 6.42	3.29% 2.19%
25	120	80	66.67	1.3979	5.43	1.3979 6.08	
12.5	120	74	61.67	1.0969	5.30	1.0969 5.74	
3.125	120	73	60.83	0.4948	5.27	0.4948 5.06	
2.2125	120	69	57.50	0.364	5.19	0.364 4.92	
1.5	120	42	35.00	0.176	4.16	0.176 4.71	

$$\hat{\alpha} = 4.507 \quad \sigma = 1/\hat{\beta} = 0.8865$$

$$\hat{\beta} = 1.128$$

$$\hat{\mu} = \frac{5 - \hat{\alpha}}{\hat{\beta}} = \frac{5 - 4.507}{1.128} = 0.4371$$

$$LD_{50} = \text{Antilog } \hat{\mu} = \text{Antilog } 0.4371$$

$$LD_{50} = 2.74\%$$

TABLA 2. Determinación de la dosis letal media (LD₅₀) de d-limoneno, en el tercer bioensayo usando al alcohol como diluyente.

Dosis (Di) % de d-limoneno	Nº de larvas usadas (Ni)	Nº de larvas muertas (ri)	Proportión de respues ta $p_i = \frac{r_i}{n_i}$	Log ₁₀ (Xi)	Di	Probit (Yi)	Probit estimado $\hat{Y} = \hat{\alpha} + \hat{\beta}X$ Xi	Limitante de confian za $\hat{Y} = LD_{50} + t_{95}(Sw)$ Sup. Inf.
50	120	118	98.33	1.6989	7.14	1.6989	7.68	6.92%
18	120	117	97.50	1.255	6.96	1.255	6.36	
12.5	120	113	94.16	1.0969	6.56	1.0969	5.88	
9.0	120	71	59.17	0.954	5.23	0.954	5.457	
6.25	120	58	48.33	0.7958	4.96	0.7958	4.98	
5.0	120	26	21.67	0.6989	4.21	0.6989	4.69	

$$\hat{\alpha} = 2.60 \quad \sigma = 1/\hat{\beta} = 0.3344$$

$$\hat{\beta} = 2.99$$

$$\mu = \frac{5 - \hat{\alpha}}{\hat{\beta}} = \frac{5 - 2.60}{2.99} = 0.8027$$

$$LD_{50} = \text{Antilog } \mu = \text{Antilog } 0.8027$$

$$LD_{50} = 6.35\%$$

TABLA 3. Determinación de la dosis letal media (LD₅₀) de d-limoneno en el cuarto bioensayo con larvas de tercer instar.

Dosis (Di) % de d-limoneno	Nº de larvas usadas (Ni)	Nº de larvas muertas (ri)	Proporción de respu- tas $\frac{r_i}{n_i}$	Log ₁₀ Di (Xi)	Di	Probit (Yi)	Probit $\hat{Y} = \hat{\alpha} + \hat{\beta}X$ Xi	Probit estimado \hat{Y}_i	Limite de confian- za $\hat{Y} = LD_{50} \pm t_{95} (Sw)$ Sup. Inf.
.4	120	36	30.0	0.6989	4.48	0.6989	4.36	1,702µl	0,134µl
0.8	120	45	37.5	0.9031	4.68	0.9031	4.86		
1.0	120	68	56.67	1.0	5.17	1.0	5.09		
1.2	120	72	60.00	1.0792	5.25	1.0792	5.28		
1.4	120	79	65.83	1.1761	5.40	1.1761	5.52		
1.8	120	93	77.50	1.2553	5.75	1.2553	5.71		
2.0	120	99	82.50	1.301	5.93	1.301	5.82		

$$\hat{\alpha} = 2.67 \quad \sigma = 1/\hat{\beta} = 0.41322$$

$$\hat{\beta} = 2.42$$

$$\mu = \frac{5 - \hat{\alpha}}{\hat{\beta}} = \frac{5 - 2.67}{2.42} = 0.9628$$

$$LD_{50} = \text{Antilog } \mu = \text{Antilog } 0.9628$$

$$LD_{50} = 0.918 \mu l$$

