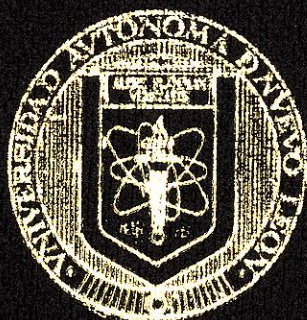


UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON  
FACULTAD DE AGRONOMIA



DL50 DEL D-LIMONENO EN Sitophilus granarius L.,  
MEDIANTE DOS FORMAS DE APLICACION, EN PRUEBAS  
DE LABORATORIO

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
INGENIERO AGRONOMO PARASITOLOGO  
PRESENTA

ROGELIO LOPEZ OVANDO

MARIN, N. L.

DICIEMBRE DE 1986

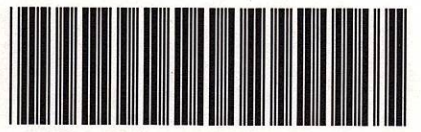
T

SB952

D5

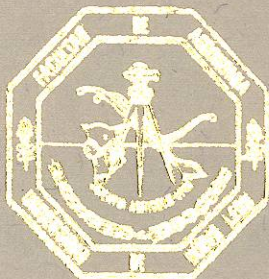
L6

C.1



1080062109

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON  
FACULTAD DE AGRONOMIA



DL50 DEL D-LIMONENO EN Sitophilus granarius L.,  
MEDIANTE DOS FORMAS DE APLICACION, EN PRUEBAS  
DE LABORATORIO

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
INGENIERO AGRONOMO PARASITOLOGO  
PRESENTA

ROGELIO LOPEZ OVANDO

MARIN, N. L.

DICIEMBRE DE 1986

006934

A handwritten signature or set of initials in dark ink, located at the bottom right of the page next to the number 006934.

T  
SB952  
D5  
L6

040.631  
FA18  
1986  
C.5



Biblioteca Central  
Magna Solidaridad

F. tesis



BU Raúl Rangel Frías  
UANL  
FONDO  
TESIS LICENCIATURA

## DEDICATORIAS

A MIS PADRES:

SR. TOMAS LOPEZ SANTOS

SRA. ESPERANZA OVANDO SILIAS

Dos seres maravillosos de los cuales me siento orgulloso ser hijo; que con mucho amor y sacrificios, han sabido educarme y sobre todo, confiado siempre en mí.

No existen palabras suficientes para agradecer todas esas extraordinarias acciones. Sin embargo, quiero a mi manera decirles que los quiero mucho y que estoy profunda e infinitamente agradecido.

Su hijo

ROGELIO LOPEZ OVANDO

A TODOS MIS FAMILIARES CON MUCHO CARIÑO, ESPECIALMENTE AQUELLOS QUE SIEMPRE ME AYUDARON A SEGUIR ADELANTADO.

A TODOS MIS AMIGOS, COMPAÑEROS Y MAESTROS.

CON AMOR PROFUNDO A MIS HERMANOS: LENTOS

TOMAS EDILBERTO

AL ING. JUAN ANTONIO RUÍZ RAMOS

MARIO ALBERTO tutoría y amistad brindada a lo largo

DORA MARCEY carrera pero especialmente en la elaboración

de este estudio.

Porque con su invaluable apoyo he logrado

para todos, la culminación de esta carrera.

AL ING. CARLOS OCHOA GOMEZ

CON CARIÑO PARA MI CUÑADA: redacción de este escrito fueron

SRA. MA. ISABEL PANANA A. no. Gracias por todo maestro.

Y MIS DOS SOBRINITOS:

AL ING. ROGER DARIO LOPEZ P. LO

HUGO ARMANDO LOPEZ P. en el aspecto estadístico de es-

te trabajo.

Que con sus risas y travesuras dan más ale-

gría y felicidad a nuestro hogar.

A TODOS MIS FAMILIARES CON MUCHO CARIÑO, ESPECIALMENTE AQUE-  
LLOS QUE SIEMPRE ME ALENTARON A SEGUIR ADELANTE.

A TODOS MIS AMIGOS, COMPAÑEROS Y MAESTROS.

## AGRADECIMIENTOS

PAGINA

### AL ING. CUAUHTEMOC NUÑEZ RAMOS

Por toda la asesoría y amistad brindada a lo largo

de toda la carrera pero especialmente en la elaboración

de este estudio.

### AL ING. CARLOS OCHOA GOMEZ

Sus sugerencias en la redacción de este escrito fueron

parte fundamental del mismo. Gracias por todo Maestro.

### AL ING. JAIME ALDAPE BOTELLO

Por su ayuda prestada en el aspecto estadístico de es-

te trabajo.

1. INTRODUCCION.....	1
2. LITERATURA REVISADA	
2.1. Posición taxonómica de <u>S. granarius</u> .....	4
2.2. Características morfológicas de <u>S. granarius</u> .	4
2.2.1. Acerca de la familia.....	4
2.2.2. Acerca del género.....	5
2.2.3. Sobre la especie.....	6
2.3. Ciclo de vida y hábitos.....	7
2.4. Distribución e importancia económica.....	8
2.5. Medidas de combate de plagas de granos almace-	
nados.	8
2.5.1. Control cultural.....	9
2.5.2. Uso de materiales protectores.....	11
2.5.3. Radiaciones.....	12
2.5.4. Control químico.....	14
2.6. Insecticidas de origen botánico.....	19
2.7. Generalidades sobre los aceites esenciales...	22
2.8. Función de los aceites esenciales.....	23
2.9. Componentes de los aceites esenciales.....	24
2.10. Generalidades del d-limoneno.....	25
2.10.1. Obtención.....	26



# I N D I C E

PAGINA

	PAGINA
2.10.2. Descripción.....	26
2.10.3. Fórmula estructural y molecular...	26
2.10.4. Características físicas y químicas	26
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. LITERATURA REVISADA.....	4
2.1. Posición taxonómica de <u>S. granarius</u> .....	4
2.2. Características morfológicas de <u>S. granarius</u> .	4
2.2.1. Acerca de la familia.....	4
2.2.2. Acerca del género.....	5
2.2.3. Sobre la especie.....	6
3. MATERIALES Y METODOS.....	7
2.3. Ciclo de vida y hábitos.....	7
2.4. Distribución e importancia económica.....	8
2.5. Medidas de combate de plagas de granos almace	8
2.5.1. Control cultural.....	9
2.5.2. Uso de materiales protectores.....	11
2.5.3. Radiaciones.....	12
2.5.4. Control químico.....	14
2.6. Insecticidas de origen botánico.....	19
2.7. Generalidades sobre los aceites esenciales...	22
2.8. Función de los aceites esenciales.....	23
2.9. Componentes de los aceites esenciales.....	24
4. 2.10. Generalidades del d-limoneno.....	25
2.10.1. Obtención.....	26

	PAGINA
2.10.2. Descripción.....	26
2.10.3. Fórmula estructural y molecular...	26
2.10.4. Características físicas y químicas del d-limoneno.....	27
2.10.5. Acción y usos.....	28
2.10.6. Toxicidad.....	29
2.10.7. Almacenamiento del d-limoneno.....	29
2.11. Algunos experimentos con d-limoneno.....	30
<b>3. MATERIALES Y METODOS.....</b>	<b>32</b>
3.1. Ubicación del estudio.....	32
3.2. Planteamiento experimental.....	32
3.2.1. Prueba por contacto.....	32
3.2.2. Prueba por inhalación.....	35
3.3. Toma de datos.....	36
3.3.1. Criterio de muerte.....	36
3.3.2. Tiempo de lectura.....	36
3.4. Análisis estadístico de los resultados....	37
3.4.1. Prueba por contacto e inhalación...	37
3.4.2. Análisis de varianza para el factor tiempo.....	38
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSION.....</b>	<b>43</b>
4.1. Pruebas por contacto.....	43

INDICE DE TABLAS Y FIGURAS

PAGINA

TABLA		PAGINA
	4.2. Pruebas por inhalación.....	45
1	Indices máximos de humedad en porcentaje 4.3. Tiempo de lectura en las pruebas por contac macenar.....	10
	to.....	53
2	Características físico-químicas del depara 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	60
	nil-1-ciclohexano.....	27
6.	RESUMEN.....	64
3	Cantidades diluidas de d-limoneno (92%), y alcohol etílico para formar las concentra- 7. BIBLIOGRAFIA.....	66
	tacto.....	34
4	Mortalidad de <u>Sitophilus granarius</u> L. pro- ducida por d-limoneno, 48 horas después de aplicaciones tópicas.....	44
5	Determinación de la DL <sub>50</sub> y DL <sub>90</sub> de d-limo- neno en <u>Sitophilus granarius</u> en pruebas de inhalación.....	46
6	Mortalidad de <u>Sitophilus granarius</u> L. pro- ducida por d-limoneno 24 horas después del tratamiento del grano.....	47
7	Determinación de la DL <sub>50</sub> y DL <sub>90</sub> de d-limo- neno en <u>Sitophilus granarius</u> en pruebas por inhalación.....	49
8	Análisis de varianza para observar el efec- to de los tratamientos en forma conjunta..	54

TABLA		PAGINA
1	Indices máximos de humedad en porcentaje para diversos granos que se destinen a almacenar.....	10
2	Características físico-químicas del <u>d-para</u> menta, 1,8-dieno-1-metil-para-iso-propenil-1-ciclohexano.....	27
3	Cantidades diluidas de d-limoneno (92%), y alcohol etílico para formar las concentraciones, utilizadas en las pruebas por contacto.....	34
4	Mortalidad de <u>Sitophilus granarius</u> L. producida por d-limoneno, 48 horas después de aplicaciones tópicas.....	44
5	Determinación de la DL <sub>50</sub> y DL <sub>90</sub> de d-limoneno en <u>Sitophilus granarius</u> en pruebas de inhalación.....	46
6	Mortalidad de <u>Sitophilus granarius</u> L. producida por d-limoneno 24 horas después del tratamiento del grano.....	47
7	Determinación de la DL <sub>50</sub> y DL <sub>90</sub> de d-limoneno en <u>Sitophilus granarius</u> en pruebas por inhalación.....	49
8	Análisis de varianza para observar el efecto de los tratamientos en forma conjunta..	54

9	Análisis de varianza desglosando el factorial en sus diferentes componentes para observar el efecto de cada uno de ellos separadamente.....	55
10	Comparación de medias para el factor tiempo.....	56
11	Comparación de medias para el factor concentración.....	57
12	Comparación de medias para la interacción tiempo de lectura-concentración.....	58

## FIGURA

1	Diagrama de flujo de las pruebas de d-limoneno ensayados contra <u>S. granarius</u> .....	33
2	Línea de regresión probit-log en las pruebas por contacto.....	50
3	Línea de regresión probit-log en las pruebas por inhalación.....	51

## 1. INTRODUCCION

Es bien conocido que el problema capital de nuestra época, es proporcionar una dieta equilibrada a grandes sectores de la población, razón por la cual los granos y sus derivados, por predominar en ellos los carbohidratos, juegan un papel de enorme importancia en la alimentación particularmente en los países en desarrollo.

El maíz es el grano que ocupa el primer lugar en cultivo y consumo en México; basta como antecedente el hecho de que actualmente representa alrededor del 40% del producto interno bruto y tiene un uso per cápita, de aproximadamente 180 kg anuales.

Sin embargo, siendo físicamente imposible el empleo inmediato de la producción total, el hombre tiene que almacenar sus granos para consumirlos de acuerdo a sus necesidades. La conservación es por esta razón el factor más importante en el aprovechamiento racional de los granos.

La protección de los granos almacenados contra el daño de insectos, ha sido una actividad difícil desde que el hombre aprendió a cultivar y guardar sus cosechas. Este problema está recibiendo en la actualidad gran atención, en virtud de los grandes volúmenes de granos alimenticios que son producidos pa

ra abastecer a una población creciente. Hasta ahora, no existe en México ni en muchos países del mundo, cifras exactas que indiquen la cuantía de las pérdidas ocasionadas por insectos exclusivamente, en el renglón de los granos almacenados; sin embargo, se pueden aceptar pérdidas globales debidas a los diversos factores en postcosecha. No obstante, Adams (1977), mencionó que las pérdidas por insectos en almacén, oscilan entre 5 y 10% de la producción mundial de cereales. La Organización Mundial para la Alimentación y la Agricultura (1977), estimó que las cosechas en Latinoamérica experimentaron pérdidas que fueron desde el 15 hasta el 30%; en el caso específico de México reportó pérdidas totales de maíz de postcosecha de 10 a 25%. Ramayo (1983), confirmó este dato al señalar pérdidas de 5 a 25% en maíz, trigo y frijol.

Existen más de 300 especies de insectos relacionados con los granos almacenados; de éstas, solamente unas 15 son de importancia económica primaria y distribución cosmopolita. En este grupo se encuentra Sitophilus granarius (L.), un devorador prominente de los granos así como la mayoría de las principales plagas que se presentan prácticamente en todas las regiones de México. El hombre ha tenido que implementar diferentes medidas de combate contra S. granarius y el resto de las plagas de almacén. Se emplean principalmente aspersiones de

insecticidas y fumigantes o bien sus mezclas. Pero la mayoría de estos productos son altamente tóxicos para humanos y con frecuencia requieren equipo y personal especializado para su aplicación. El almacenamiento de granos alimenticios se convierte por ello en un proceso costoso y muchas veces complejo.

El interés por encontrar otros productos que representen menos riesgos en su manejo, particularmente en el tratamiento para plagas de maíz almacenado, ha fortalecido la experimentación de d-limoneno, un producto con muy buenas perspectivas, manifiestas en los resultados obtenidos de investigaciones previas. Características como baja toxicidad a mamíferos, no residualidad, tóxico para insectos y bajo costo, hacen al d-limoneno un producto prometedor en el tratamiento de granos almacenados. La investigación planteada en esta fase para el d-limoneno se orientó a determinar la dosis letal media por contacto y la dosis letal media por inhalación del d-limoneno en S. granarius.

## 2.2. Características morfológicas de S. granarius.

### 2.2.1. Acerca de la familia.

Los miembros de esta familia tienen forma oval, alargada y cilíndrica, con el cuerpo angosto hacia delante, cabeza más o menos esférica, prolongándose en un pico o proboscis que lleva en el extremo del aparato bucal, por lo cual se los llama



2. LITERATURA REVISADA

2.1. Posición taxonómica de S. granarius.

La ubicación taxonómica de S. granarius L. es la que se proporciona a continuación (Coronado, 1975).

- Reino . . . . . Animal
- Phillum . . . . . Arthropoda
- Clase . . . . . Insecta
- Subclase . . . . . Pterygota
- División . . . . . Endopterigota
- Orden . . . . . Coleoptera
- Suborden . . . . . Poliphaga
- Superfamilia . . . . . Curculionoidea
- Familia . . . . . Curculionidae
- Subfamilia . . . . . Rinchophorinae
- Género . . . . . Sitophilus
- Especie . . . . . granarius

2.2. Características morfológicas de S. granarius.

2.2.2. Acerca del género.

2.2.1. Acerca de la familia.

Los miembros de esta familia tienen forma oval, alargada y cilíndrica, con el cuerpo angosto hacia delante, cabeza más o menos esférica, prolongándose en un pico o proboscis que llega en el extremo del aparato bucal, por lo cual se les llama

picudos. Esta proboscis capacita a los adultos para alimentarse debajo de la epidermis de las plantas o granos, y en las hembras es usado también para hacer una cavidad y depositar los huevecillos; la antena puede ser: recta, geniculada, moniliforme o claviforme; ojos generalmente redondos; el protórax igual de, o más ancho que la cabeza; patas con el fémur frecuentemente dilatado en el extremo, y en ocasiones provisto de dientes ventrales; tarsos de 5 segmentos, el cuarto muy pequeño, los élitros, típicos con frecuencia rugosos y cubren totalmente el abdomen, aunque en ocasiones dejan al descubierto el extremo; alas generalmente bien desarrolladas, en algunas ocasiones son rudimentarias e incluso pueden faltar. La mayoría de las especies miden de 1 a 3.5 mm, algunas pueden medir 5.0 mm y otras son diminutas. Los colores casi siempre son opacos principalmente café gris y negro; las larvas son apodas curvas, robustas con la cabeza color café obscuro, de color blanco y cuerpo suave; todas las especies de esta familia son fitófagas y algunas son importantes plagas agrícolas (Coronado, 1975).

2.2.3. Sobre la especie.

Esta especie posee ciertas características que facilitan la distinción de su más cercano congenero, el gorgojo del arroz, *Sitophilus orizae*, su tamaño generalmente es mayor que el gorgojo del arroz; 3 a 4 mm contra 2.1 a 2.8 mm debido a su incapacidad de volar, nunca se le encuentra atacando en el campo, mientras que *S. orizae* si presenta ésta actividad; ni gorgojo de los graneros. Su tamaño varía de 3 a 4 mm de color escópicamente se podrá observar que las puntuaciones en el tórax son también diferentes, en *S. granarius* estas son ovales un pico o proboscis curva y delgada. Tiene el cuerpo endurecidas; pero en *S. orizae* son circulares. La presencia de cuatro

2.2.2. Acerca del género.

El adulto es un pequeño picudo, conocido vulgarmente como gorgojo de los graneros. Su tamaño varía de 3 a 4 mm de color oscuro o negro brillante, con la cabeza prolongada en un pico o proboscis curva y delgada. Tiene el cuerpo endurecidas; pero en *S. orizae* son circulares. La presencia de cuatro

do, es de forma cilíndrica y alargada, el protorax presenta punturas o grabaciones de forma oval; el tórax es más corto que la proboscis. Presenta los élitros estriados y alas no funcionales, las antenas son acodadas y en forma de maza.

La larva mide aproximadamente 2.5 a 2.75 mm; de color blanco aperlado, de cuerpo grueso y ápodas; con la cabeza más oscura que el cuerpo y cuneiforme.

Los huevecillos son de color blanco opaco, miden de 0.6 a 0.8 mm de largo, de forma más o menos elíptica y con la parte superior aplanada.

La pupa es del tipo exarata, de color café claro y se desarrolla dentro del grano.

### 2.2.3. Sobre la especie.

Esta especie posee ciertas características que facilitan la distinción de su más cercano congenero, el gorgojo del arroz, Sitophilus orizae, su tamaño generalmente es mayor que el gorgojo del arroz; 3 a 4 mm contra 2.1 a 2.8 mm debido a su incapacidad de volar, nunca se le encuentra atacando en el campo, mientras que S. orizae si presenta ésta actividad; microscópicamente se podrá observar que las puntuaciones en el tórax son también diferentes, en S. granarius estas son ovaladas; pero en S. orizae son circulares. La presencia de cuatro

manchas color naranja sobre los élitros de S. orizae y la ausencia de las mismas en S. granarius es otra característica distintiva entre estos dos generos. Kurtz y Harris (1967).

### 2.3. Ciclo de vida y hábitos.

Tanto los adultos como las larvas se alimentan de los granos almacenados. Los gorgojos adultos viven en promedio de 7 a 8 meses. Las hembras ovipositan durante este período de 50 a 250 huevecillos; antes de depositar sus huevecillos perforan con su pico el grano y ovipositan un huevo en cada perforación, inmediatamente segrega una sustancia gelatinosa que se endurece al contacto con el aire y cubre el agujero. El período de incubación es de 1 a 2 semanas después de lo cual nace la larva que se alimenta del interior del grano; la larva completa su desarrollo en 2 a 3 semanas pasando por cuatro instares, convirtiéndose posteriormente en pupa, en este estado tarda de 5 a 7 días, emergiendo después el adulto. Invernan como adultos y como larvas. Estos insectos resisten temperaturas muy bajas y pueden dejar de comer por largos períodos sin llegar a morir. La temperatura óptima para su desarrollo es de 26 a 30° centígrados, con un óptimo de humedad relativa del 60-70%. Cada generación requiere en promedio de 4 semanas para completar su ciclo biológico. SARH (1980), Jamienson y Jobber (1985).

de emplearse para combatirla. Jamienson y Jobber (1985).

#### 2.4. Distribución e importancia económica. *o indirecto, en el*

Es un insecto distribuido mundialmente localizado principalmente en las áreas tropicales y subtropicales, debido a su incapacidad de volar su presencia se limita a los almacenes dañando básicamente maíz y trigo. Es considerado una de las especies más destructoras de los granos debido a que puede causar pérdidas casi totales. El daño principal que ocasiona es la destrucción y el consumo del grano por los estados adultos y larvarios con fines alimenticios y de oviposición; además de la contaminación que ocasionan sus excrementos y cuerpos. Todo esto demerita considerablemente la calidad alimenticia, el valor económico y el poder germinativo de los granos.

#### 2.5. Medidas de combate de plagas de granos almacenados.

Del mejor tipo de combate debe esperarse la máxima reducción de daños de plagas, y esta se encuentra en proporción directa con la pericia y oportunidad con que se ejecuten estas medidas de control, por lo tanto, cuando se intente disminuir pérdidas de alimentos almacenados, debidas a insectos, es importante no solamente la identificación de la especie en cuestión, sino también el conocimiento de los aspectos de su biología y hábitos que puedan determinar las medidas que habrán

2.- Practicar un aseo minucioso en los locales que servirán de almacén antes y después de ser usados, para eliminar to

las siguientes características:

El combate de plagas puede ser directo o indirecto, en el combate directo se ejerce la destrucción de plagas en forma específica mediante procedimientos químicos, físicos o mecánicos.

3.- Una vez aseado el local se recomienda rociar las paredes, techo y piso con algún insecticida de acción residual causada por las plagas, ya sea modificando, evitando o eliminando los factores favorables para su ataque, resultando lo provenientes del exterior o bien las que pudieran venir en que se conoce como control cultural. Quezada (1982).

#### 2.5.1. Control cultural.

De acuerdo con la S.A.R.H. (1980), las medidas básicas tendientes a prevenir el daño causado por plagas de almacén son las que a continuación se enuncian; ligeramente modificadas.

- | Producto             | Porcentaje |
|----------------------|------------|
| Trigo y arroz        | 24         |
| Maíz, cebada y avena | 13         |
- 1.- Los locales que se destinen a almacén deben reunir las siguientes características:
    - Paredes lisas y, de ser posible, pintadas.
    - De fácil ventilación; para en caso necesario, fumigar allí los productos almacenados.
    - Constar con telas mosquiteras, instaladas en ventanas y aberturas del sistema de ventilación para evitar la entrada de plagas.
  - 2.- Practicar un aseo minucioso en los locales que servirán de almacén antes y después de ser usados, para eliminar to

da plaga escondida que pudiera infestar los nuevos productos que se almacenen.

3.- Una vez aseado el local se recomienda rociar las paredes, techo y piso con algún insecticida de acción residual prolongada, con el fin de evitar la propagación de las plagas provenientes del exterior o bien las que pudieran venir en los mismos productos.

4.- No almacenar granos con contenido de humedad superior a los límites que se indican en la Tabla 1.

TABLA 1. Indices máximos de humedad en porcentaje para diversos granos que se destinen a almacenar.

Producto	Por ciento
Trigo y arroz	14
Maíz, cebada y avena	13
Frijol	12
Sorgo y soya	11

5.- Toda nueva remesa se debe inspeccionar y, en caso de estar infestada, separarla para efectuar otras medidas de control.

6.- Los productos envasados o encostalados deben estibar-

se sobre tarimas y disponerse en tal forma, que permitan una libre circulación del aire. buenos resultados en la prevención del daño provocado por insectos.

7.- Inspeccionar periódicamente los productos almacenados, para detectar la presencia de plagas y proceder a controlarlas.

2.5.2. Uso de materiales protectores.

Se consideran materiales protectores de los granos y semillas, aquellos productos empleados para la prevención del daño causado por insectos y hongos durante el período crítico de almacenamiento. Estos materiales pueden usarse en cualquiera de las formas siguientes: revueltos con el grano o semilla, aplicados en formulación especial a paredes, pisos y techos del almacén y aplicados en formulación especial a los costales que guardan el grano almacenado.

Se han estudiado los efectos de diversos materiales protectores revueltos con el grano, estos materiales han sido utilizados con éxito para proteger desde unos kilogramos de semilla hasta cientos de toneladas de grano de maíz y trigo.

También se han utilizado materiales inertes como protectores del grano, aunque sus resultados han sido erráticos, incluso existe información de que en algunas regiones del Centro y Sur del país, los agricultores utilizan las hojas o raíz



ces de algunas plantas para revolverlo con el grano almacenado; obteniendo con esto muy buenos resultados en la prevención del daño provocado por insectos.

Una consideración muy importante en el empleo de materiales revueltos con el grano, es la siguiente: cuando el grano será destinado a semilla, la libertad de la selección de materiales protectores será mayor, comparado a cuando el grano se destinará al consumo humano; porque en este caso, esta libertad de selección queda considerablemente restringida. Ramírez (1982).

### 2.5.3. Radiaciones.

Desde principios de siglo comenzaron a hacerse experimentos de irradiaciones sobre insectos y, algún tiempo más tarde, se utilizaran los radioisótopos y las radiaciones nucleares en el estudio de los hábitos alimenticios, hábitos de cópula genética, fisiológica, dispersión y toxicología de algunos de ellos. Se usaron también en el combate directo de plagas, que comenzó a tomar importancia en los últimos 25 años; pues aunque los primeros intentos se hicieron a principios de siglo irradiando con rayos X al gorgojo del tabaco (Lasioderma serricorne), no fue sino hasta 1952 cuando se demostró que las radiaciones podían resolver el problema del combate de in

festaciones de productos agrícolas.

Algunas especies que han sido objeto de investigaciones con fines de combate directo por medio de radiaciones gamma son: Daucus dorsalis (Hen), Ceratitidis capitata (Wei) y Anastrepha spp.

Entre las especies que atacan granos almacenados y que han sido investigados con el mismo fin se encuentran: Plodia interpunctella, Sitotroga cerealella, Trogoderma granarium, Rhizoperta dominica, Tribolium spp., Prostephanus truncatus y Sitophilus spp. Romero et al. (1970).

Existen dos tipos de radiación ionizada que pueden ser evaluadas para el control de insectos de productos almacenados: radiación gamma producida por la desintegración nuclear de los isotopos radiactivos tales como el cobalto 60, y la rapidez de electrones emitidas por el cátodo irradiado a pequeñas capas de material móvil usando un electron, ambos tipos de radiaciones pueden ser usadas para el control de insectos de productos almacenados, ya sea por tratamiento directo de los cereales o por el control genético de estas poblaciones de insectos.

Las radiaciones son entonces, un método relativamente nuevo en el control de insectos en granos y cereales y al pa-

recer muy prometedor debido a que:

- Pueden ser incorporadas a prácticas de manejo moderno del grano.
- Pueden ser usadas para dar tratamientos instantáneos.
- No deja residuos a dosis bajas que sean suficientes para este propósito. Loya (1977).

#### 2.5.4. Control químico.

Cuando se emplean materiales venenosos con la finalidad de reducir o eliminar poblaciones de insectos o prevenir el daño que causan los mismos, resulta lo que se conoce como control químico.

La frecuencia de su empleo, ha hecho que este método de combate sea el más popular o conocido y, además, en algunas ocasiones el más viable y económico para el combate de plagas específicas. Es necesario aclarar que todos los materiales que se emplean en el combate químico, son peligrosos para el hombre; que se deben manejar por personas enteradas de sus propiedades y que deben tomarse todas las precauciones posibles para evitar accidentes fatales. Ramírez (1982).

En el tratamiento de los granos almacenados con sustancias químicas, existen consideraciones de gran importancia que deben tomarse en cuenta:

1.- Los granos que seran empleados como simiente o semilla no deberán ser tratados con insecticidas que dañen su poder germinativo, y en caso de daño, debe cuidarse que nunca sea superior a un 5%.

2.- Los granos que sean destinados para la alimentación humana y de animales domésticos, solo deberán ser tratados con insecticidas cuyos residuos no sean tóxicos a animales de sangre caliente, sin pasar por alto su eficiencia.

3.- Al seleccionar el insecticida, debe tenerse presente que la susceptibilidad de algunas especies de insectos varía con el área ecológica donde se hacen las aplicaciones; es decir, un insecticida puede ser apropiado para combatir una plaga a una dosis dada en cierta zona ecológica, pero ser ineficaz en otra localidad para controlar la misma plaga. SARH (1980).

Cuando los insectos invaden los almacenes e infestan los productos, es necesario combatirlos con materiales químicos denominados fumigantes; con el fin de eliminar todos los estados biológicos de la plaga y evitar su propagación y los daños que ocasionan. Un fumigante es un insecticida que ejerce su acción tóxica en forma de gas, generalmente se almacenan en forma líquida o sólida, estados físicos, que deben pasar a la forma de gas para ejercer tal función.

Estos productos reúnen ventajas sobre otros insecticidas ya que por su gran poder de penetración, se introducen en todos los espacios disponibles del almacén; como pequeñas aberturas, poros de los productos almacenados, ranuras o hendiduras, así como en los elevadores, maquinaria de los molinos y, en general en todos los sitios que no pueden ser alcanzados por otros métodos de aplicación de materiales químicos. Son factores importantes entre otros, la consistencia toxicológica de cualquier residuo que se forme y la fracción nutricional total de la ración alimenticia que es probable corresponda al alimento que contiene el residuo. Por ejemplo se han encontrado (1982).

Las principales desventajas de los fumigantes son que sus gases se dispersan con rapidéz, por lo que solo son efectivos para espacios cerrados, además no tienen efecto residual sobre los insectos y su acción termina una vez que los gases escapan.

Respecto al material fumigado, se presenta aquí otra desventaja de estos productos, esta se refiere a los residuos que aparecen en los alimentos después de haber sido tratados.

En los últimos años se ha presentado gran atención a la naturaleza de los residuos que aparecen en los alimentos. El interés mundial por este problema se refleja en el hecho de que organismos internacionales como la Organización Mundial para la Alimentación y la Agricultura (FAO), y la Organización Mundial de la Salud (OMS), han establecido comites espe-

ciales encargados de investigar la naturaleza e importancia de los residuos que se forman en los alimentos, como resultado de la aplicación de plaguicidas a los mismos en sus diferentes fases.

Son factores importantes entre otros, la consistencia toxicológica de cualquier residuo que se forme y la fracción media total de la ración alimenticia que es probable corresponda al alimento que contiene el residuo. Por ejemplo se han encontrado residuos de cloropicrina inalterada que quedan en los granos después de fumigados. Existen también pruebas abundantes de que el tetracloruro de carbono es absorbido físicamente y sin reacción en los cereales y sus derivados, ya que no desaparece completamente del trigo o maíz por ventilación después de fumigados estos granos, aún con dosis relativamente pequeñas.

Se han hallado también residuos de óxido de etileno gaseoso hasta de 68 ppm en trigo fumigado con este producto a la presión atmosférica y al vacío. Existe por otra parte la posibilidad de que el disulfuro de carbono aparezca como residuo en los artículos fumigados.

Además, cuando se produce una reacción química entre el gas y el material fumigado, se forman compuestos nuevos, esta

reacción se caracteriza por su especificidad e irreversibilidad, cuando la reacción es irreversible el resultado es la formación de residuos permanentes, ejemplos de ellos son: la reacción entre el cianuro de hidrógeno y los azúcares reductores de los granos secos, en virtud de lo cual se forman cianhidrinas; o la aparición de bromuros inorgánicos después del tratamiento de ciertos cereales con bromuro de metilo, incluso se ha demostrado que el óxido de etileno reacciona con las vitaminas del complejo B y destruyen en grado considerable los aminoácidos: histina, metionina y lisina de los artículos expuestos a la acción de este fumigante. FAO (1970).

En realidad puede decirse que todos los fumigantes sean aprobados o no por los organismos correspondientes, son altamente riesgosos, ya sea por su alta toxicidad al hombre o por los residuos y reacciones que quedan y se producen respectivamente con el material fumigado, razón por la cual, se hace imperiosa la necesidad de experimentos con otros productos que ofrezcan menos riesgos en su manejo y aplicación en el control de plagas de granos almacenados. En este renglón los productos derivados o sintetizados a partir de especies vegetales, prometen ser una buena alternativa por explotar.

Se han aislado los principios tóxicos del piretro y se conocen las estructuras químicas de los seis componentes principales con acción insecticida, los cuales son llamados coleog

## 2.6. Insecticidas de origen botánico.

Las plantas en el transcurso de su evolución han desarrollado mecanismos de protección para defenderse del ataque de los insectos, entre estos mecanismos tenemos: la repelencia y la acción insecticida, es así como muchas especies de plantas contienen materiales insecticidas, algunas de las cuales han sido utilizadas por el hombre desde tiempos muy remotos. Varios extractos han proporcionado valiosos insecticidas que tienen la ventaja de que su uso no provoca contaminación, debido a que son degradados rápidamente en el medio. Cremlyn (1982).

Algunos ejemplos de insecticidas botánicos y sus derivados son: el piretro, la rotenona, la nicotina y los derivados de la ryanina y la sabadilla. Cuando se aíslan los componentes químicos de estos productos en forma sintética, el producto resultante se conoce como piretroides.

De los productos antes mencionados, el piretro es el más usado; se obtiene del crisantemo, Chrysanthemum cinerariifolium, y su uso como insecticida se remonta a épocas remotas (400 A.C.).

Se han aislado los principios tóxicos del piretro y se conocen las estructuras químicas de los seis componentes principales con acción insecticida, los cuales son llamados colec



tivamente piretrinas. El piretro tiene alta toxicidad para artrópodos y baja toxicidad para animales de sangre caliente; por otro lado, repele a ciertos insectos y sus residuos son de vida corta.

A pesar de que los extractos de las flores del piretro se han usado por muchos años, su utilización se limita al ambiente doméstico, puesto que varios factores del medio, particularmente luz y calor los degradan demasiado rápido, impidiendo que sean efectivos contra plagas en condiciones de campo. Lagunes (1982).

Dentro de los piretroides el pelitre es de los más usados y es útil en el control de plagas domésticas, industriales y de los alimentos almacenados. Además cabe aclarar que existe suficiente información sobre extractos y derivados de plantas con propiedades insecticidas que aún no se usan comercialmente, por ejemplo, Su en 1977 probó las propiedades tóxicas de la pimienta, sobre el gorgojo del arroz, Sitophilus orizae. Los extractos crudo y purificado de la pimienta resultaron altamente tóxicos para el insecto cuando se trató el grano de trigo y subsecuentemente se infestó con el gorgojo, esta toxicidad es atribuible a la presencia de la piperina en la pimienta, aunque también se puede deber a otros compuestos químicos en conjunción o sinergizado con la piperina.

Speirs y Mahany (1972), estudiaron los efectos tóxicos de la saponina del frijol también sobre S. orizae. La saponina dio un alto grado de protección al trigo que fue espolvoreado a diferentes dosis. La dosis de 600 ppm, produjo un 100% de mortalidad en una semana. La sal de calcio fue ligeramente menos tóxica para los insectos que la saponina.

Taiqui y Burkholder, citados por Díaz (1985) mencionan que los aceites de algodón, soya, maíz y cacahuate, suprimen y repelen al adulto del gorgojo de los graneros Sitophilus granarius. En el grano de trigo, a dosis de 5 y 10 mililitros por kilogramo; con la segunda dosis la protección se extiende por lo menos 60 días, sin embargo, aunque los aceites no interfieren en la absorción del agua, reducen la capacidad germinativa de la semilla.

En Colombia encontraron que la sobrevivencia y producción de la progenie de Sitophilus orizae y Sitotroga cerealella, fue significativamente reducida al tratar el maíz almacenado con dosis de 1, 5 y 9 ml de aceite vegetal por kilogramo de grano, tuvieron igual efectividad el aceite crudo de algodón, el aceite refinado de maíz, el aceite crudo de palma y el aceite de soya refinado. La protección que se obtuvo fue mayor a 120 días en las dosis de 5 y 8 mililitros por kilogramo contra huevecillos de S. cerealella. El resultado también fue

satisfactorio cuando la infestación se hizo con adultos de S. orizae. La germinación no fue afectada adversamente por ninguno de los tratamientos. Montes et al, (1980) citados por Díaz (1985).

Schoonhoven (1978) encontró que 5 o 10 mililitros de aceite vegetal por kilogramo de grano dan protección al frijol por más de 75 días, contra el ataque de Zabrotes subfasciatus (Boh). Los aceites crudos dieron significativamente mejor protección que los aceites refinados. Los aceites incrementaron la mortalidad de los adultos y reducen la oviposición, incubación de los huevos y, la progenie del adulto.

La fracción activa del aceite parece ser el componente triglicérido. El ácido oléico resultó ser el único ácido graso efectivos; los ácidos linoléico también tienen algún efecto insecticida y reducen la oviposición. Díaz (1985).

## 2.7. Generalidades sobre los aceites esenciales.

Para una mejor comprensión de lo que son los aceites esenciales, apelaremos a la siguiente definición que designa como aceites esenciales a los productos generalmente olorosos obtenidos ya sea sometiendo al vapor de agua, vegetales o partes de vegetales o bien al exprimir el pericarpio fresco de los hesperidios. Praloran (1977). Como el producto que aquí

nos interesa es extraído a partir de esencias de agrios, única mente haremos referencia a este tipo de plantas.

Estos compuestos pueden localizarse en diferentes órganos de las plantas, en los cítricos, se les encuentra en las hojas, en las diferentes estructuras florales y en la corteza de los frutos; el aceite esencial está encerrado en bolsas pequeñas llamadas glándulas de esencia e incluidas en los tejidos sub-epidérmicos, tejidos polisádicos de las hojas, epicarpio de los frutos y tejidos adyacentes a la epidermis del pétalo y el cáliz. Son visibles a simple vista sobre la corteza de los fru tos, señalados por pequeñas depresiones de la epidermis que puede llegar a tener 50 de ellas por centímetro cuadrado, y en la parte del haz de las hojas en forma de pequeñas puntuaciones claras.

Las esencias de los frutos son obtenidas por medios mecánicos muy numerosos, pero que a la vez pueden ser clasificados en tres categorías, según actúen: por deformación de la corteza, por presión o por abrasión.

## 2.8. Función de los aceites esenciales.

Solo se han propuesto teorías finalistas para explicar el papel biológico de los aceites esenciales. En general se cree que su olor ejerce atracción sobre los insectos y que, por su

medición, favorece la polinización, por otra parte, ciertas observaciones demuestran que el aceite esencial del pericarpio de los frutos desempeña un papel protector ante los depredadores; y que los aceites de las raíces, tallos y de las hojas protegen probablemente contra plantas parásitas y la actividad alimenticia de los insectos. Praloran (1977).

Braverman (1952), sentencia que en ausencia de cualquier prueba definida, resulta más satisfactorio considerar a los aceites esenciales, igual que los alcaloides y taninos, como productos de deshecho del metabolismo de las plantas.

## 2.9. Componentes de los aceites esenciales.

Los aceites de los agrios son compuestos volátiles o esenciales típicos, constituidos principalmente por hidrocarburos llamados terpenos ( $C_{10}H_{16}$ ), y por una cantidad menor de sesquiterpenos ( $C_{15}H_{24}$ ); estos dos componentes actúan como soportes para los compuestos oxigenados - alcoholes, aldeídos, cetonas, ácidos y ésteres - que usualmente son portadores del olor característico de la esencia en la que están contenidos. Braverman (1967).

Los terpenos forman una amplia familia de compuestos químicos, aislados principalmente de aceites volátiles y resinas de plantas. Estrictamente son hidrocarburos cíclicos y acíclicos.

cos cuyas fórmulas moleculares son múltiplos del isopreno ( $C_5 H_8$ ), considerado como la unidad fundamental de la estructura de los terpenos.

#### 2.10. Generalidades del d-limoneno.

Este compuesto se conoce como d-limoneno, cuya fórmula desarrollada es: d-paramenta 1,8-dieno-1-metil-para-iso-propenil-1-ciclohexano. Recientemente fue probado como insecticida en el laboratorio de cría masiva de insectos de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León, y patentado por la misma institución.

El d-limoneno es un hidrocarburo no saturado con dos dobles enlaces, pertenece al grupo de los terpenos monocíclicos y es el principal hidrocarburo constituyente de los aceites esenciales. Es el compuesto de mayor importancia industrial de este grupo, y su forma ópticamente inactiva es el dipente-no.

Las fuentes comerciales principales son las esencias de los cítricos; principalmente de la naranja de la cual puede obtenerse con una riqueza superior al 90%, por ser su principal constituyente y a su vez el único hidrocarburo presente; la esencia de la naranja es, por eso, la mejor fuente para la preparación del d-limoneno puro.

### 2.10.1. Obtención.

Con el aumento de la producción de jugos a partir de frutos cítricos, se aprovecha la corteza de la naranja para extraer la esencia; principalmente d-limoneno. El aceite es extraído por exprimido en frío y proviene de naranjas enteras ya sea por rotura de las vesículas oleíferas o por trituración de la cáscara.

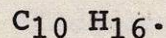
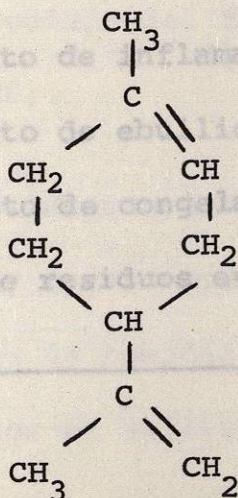
Característica	Grado
Pureza	94 a 96%

### 2.10.2. Descripción.

Es un líquido incoloro y transparente. Cuando ha sido purificado cuidadosamente posee un agradable olor a limón libre de alcanfores y trementina; posee un sabor amargo, es miscible en cloroformo, eter, xileno, glicerina, benceno y muchos otros solventes orgánicos; pero es prácticamente insoluble en agua.

### 2.10.3. Fórmula estructural

### Fórmula molecular



Viscosidad a 25°C

3.5 centipoises

Punto de ebullición

35°C (121°F)

Punto de ebullición

175°C

Punto de congelación

-96.9°C

% de residuos evaporativos

0.03 - 0.80

#### 2.10.4. Características físicas y químicas del d-limoneno.

En la Tabla 2 se expresan las características físicas y químicas del d-limoneno. Kesterson et al. (1975).

TABLA 2. Características físico-químicas del d-paramenta, 1, 8-dieno-1-metil-para - iso-propenil-1-ciclohexano.

leato de sorbitano en proporción de 97:2, 1:99, "in vitro", la

combinación resultó más eficaz que el d-limoneno en la disolu-

ción de cálculos biliares. Los cálculos de colesterol puro se

disolvían con mayor facilidad que los de pigmentos biliares y

calcio. "in vivo" se ha comprobado con cerdos, que 40 ml solo

son parcialmente eficaces. No se han observado efectos tóxicos

en los análisis histológicos practicados, ni en las pruebas de

funcionamiento hepático. Por otra parte, la mezcla se adminis-

tró a los pacientes con retención de cálculos a través del colé-

doco\* mediante un tubo resistente de epiclorhidrina a dosis de

20 ml a días alternos; en muchos de los pacientes la adminis-

tración repetida del farmaco disolvió eficazmente los cálculos.

Prous (1978).

Característica

Grado

Pureza

94 a 96%

Color

Incoloro

Olor

Limpio olor a cítrico.

Peso específico

0.850

Rotación óptica

+ 96 A + 104

Índice refractivo

1.475

Valor de peróxido

No más de 2.0

No. de ácidos

0.40

Viscosidad a 25°C

3.5 centipoises

Punto de inflamación

35°C (121°F)

Punto de ebullición

175°C

Punto de congelación aplicación -96.9°C industrias ali-

mentar % de residuos evaporativos fumer 0.03 - 0.80 ía y, en la

elaboración de bebidas alcohólicas. En la industria productora

de plásticos es utilizado como solvente; en la elaboración de

\* Canal que conduce la bilis al duodeno.



### 2.10.5. Acción y usos.

El d-limoneno ha sido estudiado "in vitro" e "in vivo", como agente disolvente de cálculos biliares postoperatorios en el cerdo y en ensayos clínicos se probó en forma de mezcla acuosa o como combinación de d-limoneno, polisorbato 80 y mono<sub>leato</sub> de sorbitano en proporción de 97:2, 1:99, "in vitro", la combinación resultó más eficaz que el d-limoneno en la disolución de cálculos biliares. Los cálculos de colesterol puro se disolvían con mayor facilidad que los de pigmentos biliares y calcio. "in vivo" se ha comprobado con cerdos, que 40 ml solo son parcialmente eficaces. No se han observado efectos tóxicos en los análisis histológicos practicados, ni en las pruebas de funcionamiento hepático. Por otra parte, la mezcla se administró a 15 pacientes con retención de cálculos a través del colédoco\* mediante un tubo resistente de epiclorhidrina a dosis de 20 ml a días alternos; en muchos de los pacientes la administración repetida del fármaco disolvió eficazmente los cálculos. Prous (1978).

### 2.10.7. Almacenamiento del d-limoneno.

El d-limoneno encuentra aplicación en las industrias alimentarias y farmacéuticas, en perfumería, confitería y, en la elaboración de bebidas alcohólicas. En la industria productora de plásticos es utilizado como solvente; en la elaboración de

---

\* Canal que conduce la bilis al duodeno.

bebidas carbonatadas es utilizado como mejorador; en productos alimenticios es utilizado como aromatizante de bebidas dulces, jarabes, galletas y ciertos manjares ligeros; la misma aplicación tiene en perfumería, en farmacia suele disimular el sabor desagradable de un medicamento. Kesterson et al. (1975).

do, galvanizado o varnizado en su interior. El almacenaje se efectúa en un lugar fresco y con temperatura constante, con la

#### 2.10.6. Toxicidad.

cond En pruebas de laboratorio con ratas macho se estableció que la LD<sub>50</sub> por vía oral, intraperitoneal y subcutánea del d-limoneno es muy elevada, aunque la correspondiente a la vía intravenosa es extraordinariamente baja, 4.4 g/kg (p.o.); 3.6 g/kg (i.p.); 2.0 g/kg (s.c.); 125 mg/kg (i.v.).

serv En pruebas como medicamentos para tratar cálculos biliares en humanos, solo se reportaron reacciones secundarias, tales como: náuseas, vómitos, diarreas y dolor abdominal, al utilizar dosis de 16.25 g/día de d-limoneno en el conducto biliar, ajustando la dosis según la edad y la gravedad de la afección del paciente. Prous (1978).

lico como diluyente, separadamente, así como el producto puro

#### 2.10.7. Almacenamiento del d-limoneno.

DB<sub>50</sub> Una vez extraídos los aceites esenciales de los agrios, pueden ser conservados por lo menos durante un año, con la condición de observar unas reglas estrictas de envasado y almacenaje. Conviene ante todo evitar la acción del aire, del agua y

de los oxidantes en general; así como de la luz. Para las cantidades pequeñas de aceite esencial, se utilizan unos recipientes de vidrio de color, sellados por tapones de vidrio o de caucho recubierto por una capa inatacable, para cantidades importantes, se emplean unos bidones o barriles de hierro estañado, galvanizado o varnizados en su interior. El almacenaje se efectúa en un lugar fresco y con temperatura constante, con la condición de seguir estas normas sencillas se puede suprimir el empleo de antioxidantes.

Por otra parte, se encontró que el almacenaje por doce meses bajo un gas inerte tal como el nitrógeno, en envases llenos con adición de hidroxitolueno butilado (50 a 100 ppm), conserva la calidad original del d-limoneno. Praloran (1977).

### 2.11. Algunos experimentos con d-limoneno.

Garza (1985), probó la toxicidad del d-limoneno sobre larvas del 1º al 3º instar de Heliohis virescens (Fab). Sus formulaciones fueron utilizado aceite mineral y alcohol etílico como diluyente, separadamente, así como el producto puro y haciendo las aplicaciones en forma directa o tópica. Las DL<sub>50</sub> encontradas fueron: en sus mezclas con aceite mineral, 2.74%; en sus mezclas con alcohol 6.35%; mientras que para el d-limoneno puro fue de 0.918 microlitros.

Por su parte Garrido (1985), demostró la toxicidad del d-limoneno sobre S. granarius, utilizando volúmenes de aplicación por insecto de 0.2 a 0.8 microlitros, tópicamente, concluyendo en base a un análisis de varianza que se podría considerar la cantidad de 0.8 microlitros, como la más apropiada para este efecto, por ser la que produjo los más altos promedios de mortalidad.

3.2. Planteamiento experimental

En otras investigaciones, fueron también probadas las propiedades fungicidas del d-limoneno. El crecimiento y producción de aflatoxinas de Aspergillus parasiticus fue inhibido al colocar este hongo en un medio de glucosa-levadura, conteniendo de 500 - 700 ppm de aceite de cítricos (naranja y limón). Esta inhibición fue atribuida a la presencia de d-limoneno, principal constituyente del aceite de cítricos. Alderman y Marth (1976).

### 3.2.1. Prueba por contacto.

En estas observaciones, las aplicaciones tópicas se hicieron con una jeringa controlada por un micrómetro, lo cual constituye probablemente, de acuerdo con Winteringham, citado por Sánchez (1982), el medio más sencillo para dosificar con exactitud las aplicaciones individuales a insectos. Los tratamien-

### 3. MATERIALES Y METODOS

#### 3.1. Ubicación del estudio.

Esta investigación se realizó en el Laboratorio de Cría Masiva de Insectos, dentro de las instalaciones de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León, con sede en el kilómetro 17 de la carretera Zuazua-Marín, Marín, N.L.

#### 3.2. Planteamiento experimental.

Para determinar la mortalidad producida por d-limoneno en adulto de Sitohpilus granarius, mediante dos formas de aplicación, se plantearon sendos procesos experimentales, llamados , convencionalmente: pruebas por contacto - que involucró una aplicación tópica - y, pruebas por inhalación - que se fundamentó en una aplicación sobre la superficie del grano -. Una representación esquemática de estos ensayos se proporcionan en la Figura 1, y una explicación de los mismos se trata enseguida.

##### 3.2.1. Prueba por contacto.

En estas observaciones, las aplicaciones tópicas se hicieron con una jeringa controlada por un micrómetro, lo cual constituye probablemente, de acuerdo con Winteringham, citado por Sánchez (1982), el medio más sencillo para dosificar con exactitud las aplicaciones individuales a insectos. Los tratamien-

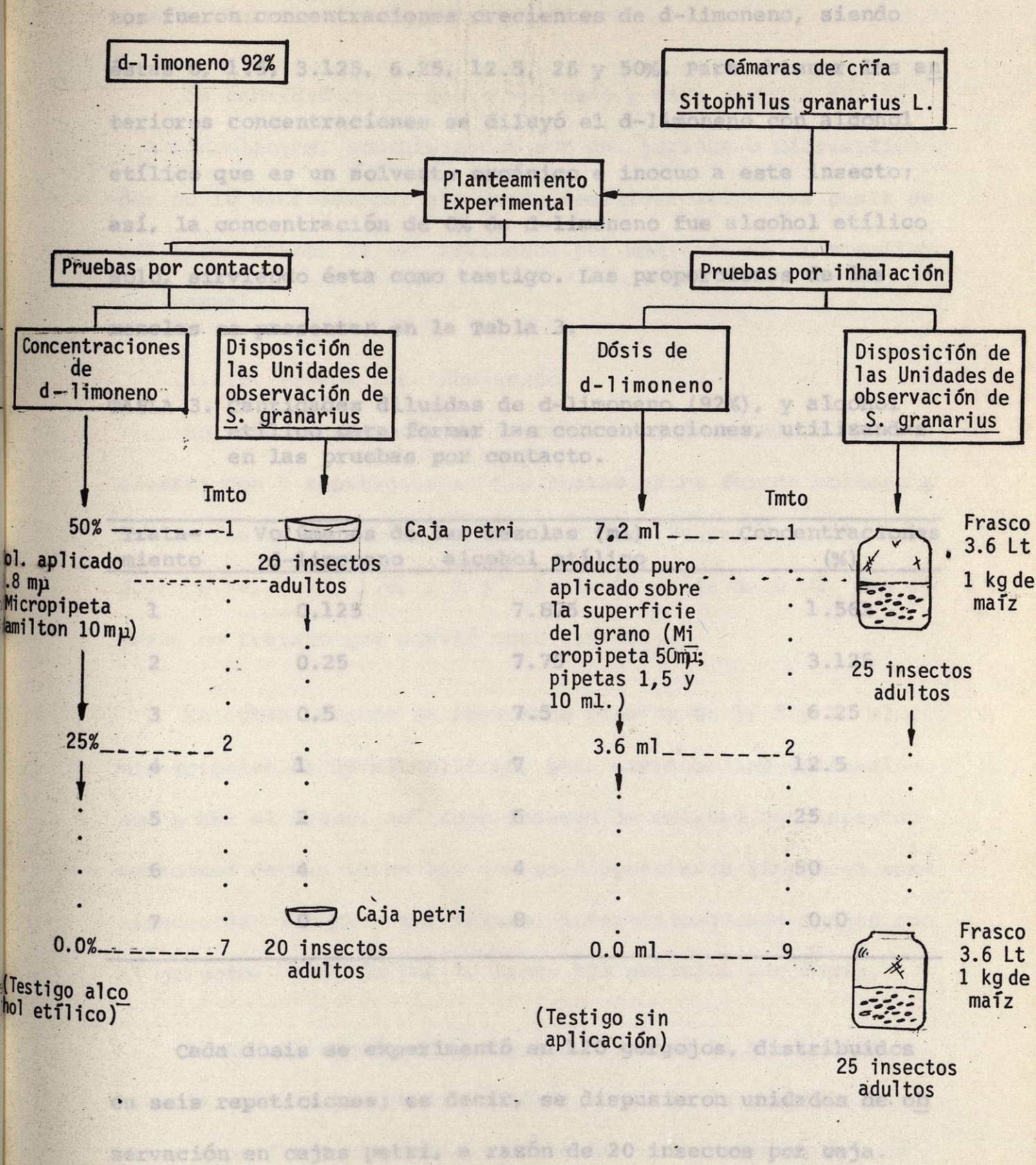


FIGURA 1. Diagrama de flujo de las pruebas de d-limoneno ensayados contra *S. granarius*.

tos fueron concentraciones crecientes de d-limoneno, siendo éstas 0, 1.5, 3.125, 6.25, 12.5, 25 y 50%. Para obtener las anteriores concentraciones se diluyó el d-limoneno con alcohol etílico que es un solvente orgánico e inocuo a este insecto; así, la concentración de 0% de d-limoneno fue alcohol etílico solo, sirviendo ésta como testigo. Las proporciones de las mezclas se presentan en la Tabla 3.

TABLA 3. Cantidades diluidas de d-limoneno (92%), y alcohol etílico para formar las concentraciones, utilizandas en las pruebas por contacto.

Tratamiento	Volúmenes de las mezclas (ml)		Concentraciones (%)
	d-limoneno	alcohol etílico	
1	0.125	7.875	1.562
2	0.25	7.75	3.125
3	0.5	7.5	6.25
4	1	7	12.5
5	2	6	25
6	4	4	50
7	0	8	0.0

Cada dosis se experimentó en 120 gorgojos, distribuidos en seis repeticiones; es decir, se dispusieron unidades de observación en cajas petri, a razón de 20 insectos por caja. Los gorgojos fueron obtenidos de poblaciones puras reproduci-

das en cámaras de cría del laboratorio.

La cantidad de producto aplicado a cada gorgojo fue de 0.8 microlitros, suministrados con una jeringa o microaplicador de 10 microlitros, que puede dosificar alícuotas hasta de 0.2 microlitros, al ser accionada por medio de un microaplicador manual.

Antes de obtener la estimación porcentual de mortalidad producida por el d-limoneno, fue necesario establecer el siguiente

3.2.2. Prueba por inhalación.

En estas observaciones se utilizaron un total de 9 tratamientos con 5 repeticiones. Los tratamientos fueron volúmenes crecientes de d-limoneno 92%, los cuáles fueron 0, 0.09, 0.18, 0.36, 0.54, 0.72, 1.8, 3.6 y 7.2 ml. La dosis de 0 ml. fue el grano no tratado que sirvió como testigo.

En estas pruebas se emplearon pipetas de 1, 5 y 10 ml y micropipetas de 50 microlitros, para efectuar las aplicaciones sobre el grano, así como frascos de cristal con tapa con capacidad de 3.6 lt en los que se dispuso maíz limpio en cantidades de 1 kilogramo por frasco, infestándose cada unidad con 25 gorgojos, sumando por lo tanto 125 gorgojos por dosis.

En la aplicación del producto, se tomó la precaución de hacerla una vez que se confirmó la ausencia de gorgojos en la parte superficial del maíz, para evitar el contacto directo con el d-limoneno. La mejor manera de lograr lo anterior, fue

3.3.1. Criterio de muerte.

3.3.2. Tiempo de lectura.

La regla adoptada para calificar muerto a un gorgojo, fue su inmovilidad aparente observada al estereoscopio por



realizando la aplicación inmediata a la infestación del grano y constatando la presencia de los insectos hacia el fondo del frasco.

De este estudio consistió en el análisis del factor tiempo como un tratamiento conjugado con las dosis, influyendo

### 3.3. Toma de datos.

Antes de obtener la estimación porcentual de mortalidad

En las pruebas por inhalación se tomó una sola lectura producida por el d-limoneno, fue necesario establecer el siguiente criterio, para diagnosticar la muerte de los insectos. los insectos al tóxico.

Se logró además con esto homogenizar más los datos de mortalidad.

### 3.4. Análisis estadístico de los resultados.

#### 3.3.1. Criterio de muerte.

##### 3.4.1. Prueba por contacto e inhalación.

La regla adoptada para calificar muerto a un gorgojo, fue su inmovilidad aparente observada al estereoscopio por algunos segundos, y confirmando su falta de reacciones presionando ligeramente en la región tergal con una aguja de disección. El solo movimiento de alguna de sus patas o antenas u otra parte del cuerpo del insecto, bastaba para descartarlo como muerto. Este criterio fue el mismo en ambos procesos.

Este análisis de regresión, basado en la ecuación de la recta

#### 3.3.2. Tiempo de lectura.

En las pruebas por contacto se tomaron cuatro lecturas

de mortalidad diferentes en cada tratamiento, las cuales se

hicieron al cumplirse 1, 24, 36 y 48 horas, después de la

aplicación del producto. Esto se llevó a cabo con la finali-

dad de establecer el tiempo oportuno de la toma de datos, puesto que no existe información al respecto; de tal modo que una extensión de este estudio consistió en el análisis del factor tiempo como un tratamiento conjugado con las dosis, influyendo en la mortalidad.

En las pruebas por inhalación se tomó una sola lectura por tratamiento que fue 24 horas después de la exposición de los insectos al tóxico.

### 3.4. Análisis estadístico de los resultados.

#### 3.4.1. Prueba por contacto e inhalación.

Aunque los procedimientos metodológicos de ambos procesos difieren<sup>1</sup>, las dosis - concentraciones y volúmenes - experimentados aún de este modo, se ajustan perfectamente a una prueba toxicológica típica, en la que el análisis de regresión "probit-log", constituye el mejor método estadístico para determinar la potencia de un producto (Finney, 1967). Este análisis de regresión, basado en la ecuación de la recta  $y = a + bx$ , se fundamenta en que la respuesta de los insectos a dosis crecientes de un tóxico, es del tipo sigmoideal cuando se grafican mortalidad contra dosis en un plano bidimensional.

<sup>1</sup> Supra. pag. 32 ; 3.2

Mediante una transformación de las dosis a su logaritmo y de la mortalidad a valores "probit", la distribución de los puntos se aproximan a una línea recta (Finney, 1967; Bonnier-Tedin, 1966).

Los valores "probit" son unidades de probabilidad, arreglados en una escala del uno al diez, donde, por ejemplo el 5 representa el 50% de mortalidad y el 6.28 representa el 90%.

Con los análisis de regresión se obtuvieron los valores de "a" y "b", de la ecuación de regresión:

$$Y = a + bx$$

donde:

Y = Valor probit

a = Ordenado al origen

b = Coeficiente de regresión o pendiente de la línea de regresión.

x = Logaritmo de la dosis

Datos que a la vez sirvieron para calcular las diferentes dosis letales - DL<sub>50</sub> y DL<sub>90</sub>- para cada proceso.

#### 3.4.2. Análisis de varianza para el factor tiempo.

Como se mencionó anteriormente en el punto 3.3.2., una

extensión de este estudio fue; realizar colateralmente a las pruebas por contacto un análisis de los datos dentro de un di seño experimental básico. Esto fue posible debido a que se tenían 6 repeticiones, así como niveles para tiempo y dosis.

Los datos se analizaron dentro de un diseño completamente al azar, con arreglo factorial con seis repeticiones, obteniéndose un total de 24 tratamientos, resultado de las combinaciones de los cuatro niveles del factor A (tiempo), con los seis niveles del factor B (concentraciones). Existió, además, la necesidad de transformar los datos originales, para lo cual se utilizó la transformación arcoseno, dado que, es la más apropiada para cuando se tienen proporciones.

El planteamiento de hipótesis para este experimento fue el siguiente:

Ho:  $T_i = 0$   
 No existe efecto de tratamien  
 tos. (Ninguna de las dosis  
 utilizadas causa mortalidad  
 al insecto).

vs.

Ha:  $T_i \neq 0$   
 Existe efecto de tratamien  
 tos (Al menos una de las  
 dosis utilizadas causa mor  
 talidad al insecto).

Una relación de los tratamientos, a partir de los factores tiempo y concentración, se proporcionan a continuación:

$$H_{01}: T_i = 0$$

El efecto de los tratamientos sobre la mortalidad del insecto no está dado por la concentración del producto.

$$H_{02}: T_i = 0$$

El efecto de los tratamientos sobre la mortalidad del insecto no está dado por el tiempo de exposición al producto.

$$H_{03}: T_i = 0$$

El efecto de los tratamientos sobre la mortalidad del insecto no es producido por la combinación de la concentración del producto con el tiempo de exposición.

$$\text{vs. } H_{a1}: T_i \neq 0$$

El efecto de los tratamientos sobre la mortalidad del insecto está dado por la concentración del producto.

$$\text{vs. } H_{a2}: T_i \neq 0$$

El efecto de los tratamientos sobre la mortalidad del insecto está dado por el tiempo de exposición al producto.

$$\text{vs. } H_{a3}: T_i \neq 0$$

El efecto de los tratamientos sobre la mortalidad del insecto es producido por la combinación de la concentración del producto con el tiempo de exposición.

Una relación de los tratamientos, a partir de los factores tiempo y concentración, se proporcionan a continuación:

Factor A = tiempo de lectura

Factor B = concentraciones  
(dosis de d-limoneno).

Niveles

 $a_1 = 1$  hora $a_2 = 24$  horas $a_3 = 36$  horas $a_4 = 48$  horas

Niveles

 $b_1 = 1.5$  % $b_2 = 3.125$  % $b_3 = 6.25$  % $b_4 = 12.5$  % $b_5 = 25$  % $b_6 = 50$  %Tratamientos = (combinación de los niveles de los factores  
A y B).

- |     |           |     |           |
|-----|-----------|-----|-----------|
| 1.  | $a_1 b_1$ | 13. | $a_3 b_1$ |
| 2.  | $a_1 b_2$ | 14. | $a_3 b_2$ |
| 3.  | $a_1 b_3$ | 15. | $a_3 b_3$ |
| 4.  | $a_1 b_4$ | 16. | $a_3 b_4$ |
| 5.  | $a_1 b_5$ | 17. | $a_3 b_5$ |
| 6.  | $a_1 b_6$ | 18. | $a_3 b_6$ |
| 7.  | $a_2 b_1$ | 19. | $a_4 b_1$ |
| 8.  | $a_2 b_2$ | 20. | $a_4 b_2$ |
| 9.  | $a_2 b_3$ | 21. | $a_4 b_3$ |
| 10. | $a_2 b_4$ | 22. | $a_4 b_4$ |
| 11. | $a_2 b_5$ | 23. | $a_4 b_5$ |
| 12. | $a_2 b_6$ | 24. | $a_4 b_6$ |

## Modelo estadístico:

$$Y_{ijk} = \mu + t_i + E_{ijk}$$

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + AB_{ij} + E_{ijk}$$

Con: i; 1 ..... 4

j; 1 ..... 6

k; 1 ..... 6

## 4.1. Pruebas por contacto.

En la Tabla 4 se presentan los promedios de mortalidad para cada concentración de d-limoneno. Es importante notar que en esta forma de ser suministrado; el d-limoneno pareció ser inocuo a S. granarius cuando se aplicaron concentraciones muy bajas, nominalmente 1.5, 3.125 y 6.25%, puesto que las mortalidades producidas, fueron las más bajas de todo el estudio, siendo estas 0.0, 3.33 y 9.16% respectivamente. No obstante esta aparente falta de acción se altera drásticamente al pasar de 6.25 a 12.5% de d-limoneno, originando esta última una mortalidad de 70%. Mientras que las concentraciones de 25 y 50% originaron mortalidades de 86.6 y 100% respectivamente. Esta situación de haber obtenido porcentajes de mortalidad contrastantes puede explicarse al consultar la Tabla 3 del capítulo de Materiales y Métodos. Así encontramos que para las tres primeras concentraciones corresponden volúmenes reales de d-limoneno muy pequeños, pero a medida que estos volúmenes se incrementan, el efecto de la concentración resulta

4. RESULTADOS Y DISCUSION

Debido a que el experimento fue dividido en dos procesos diferentes, que fueron las aplicaciones del tóxico por contacto y por inhalación, los resultados se exponen en esta misma secuencia.

4.1. Pruebas por contacto.

En la Tabla 4 se presentan los promedios de mortalidad para cada concentración de d-limoneno. Es importante notar que en esta forma de ser suministrado; el d-limoneno pareció ser inocuo a S. granarius cuando se aplicaron concentraciones muy bajas, nominalmente 1.5, 3.125 y 6.25%, puesto que las mortalidades producidas, fueron las más bajas de todo el estudio, siendo estas 0.0, 3.33 y 9.16% respectivamente. No obstante esta aparente falta de acción se altera drásticamente al pasar de 6.25 a 12.3% de d-limoneno, originando esta última una mortalidad de 70%. Mientras que las concentraciones de 25 y 50% originaron mortalidades de 86.6 y 100% respectivamente. Esta situación de haber obtenido porcentajes de mortalidad contrastantes puede explicarse al consultar la Tabla 3 del capítulo de Materiales y Métodos. Así encontramos que para las tres primeras concentraciones corresponden volúmenes reales de d-limoneno muy pequeños, pero a medida que estos volúmenes se incrementan, el efecto de la concentración resulta



igualmente notorio. El cambio brusco observado entre las concentraciones 3 y 4 coincidió con los resultados de Garza (1985), al utilizar concentraciones de d-limoneno-alcohol etílico sobre Heliothis virescens, ya que al pasar de la concentración de 9 a 12.5%, la mortalidad cambia bruscamente de 59.17 a 94.16%, lo cual nos sugiere que en este rango existe un umbral en el cual el producto muestra su agresividad tóxica.

#### 4.2. Pruebas por inhalación.

TABLA 4. Mortalidad de Sitophilus granarius L. producida por d-limoneno, 48 horas después de aplicaciones tóxicas.

A) Datos originales		B) Datos transformados	
Dosis (Concentración de d-limoneno % )	Mortalidad (Promedios %)	Dosis (Logaritmo)	Mortalidad (Probit)
1.5	0.0	0.1760	-
3.125	3.33	0.4948	3.1616
6.25	9.16	0.7958	3.6654
12.5	70	1.0969	5.5244
25	86.6	1.3979	5.5244
50	100	1.6989	-

En la misma Tabla 4, pero en su sección B, se muestran los datos transformados, utilizados en el análisis de regresión probit-log. La información obtenida a partir de este análisis fue básicamente los valores para la  $DL_{50} = 11.34\%$  y  $DL_{90} = 26\%$  de concentración de d-limoneno. Estos valores con sus respectivos límites de confianza, la ecuación de regresión y el coeficiente de regresión aparecen en la Tabla 5.

#### 4.2. Pruebas por inhalación.

Los datos que aparecen en la Tabla 6, corresponden a los diferentes porcentajes de mortalidad de S. granarius en este experimento. A diferencia del proceso anterior aquí los porcentajes de mortalidad se van incrementando de manera casi proporcional al aumento de las dosis, lo cual confirma lo reportado por Nuñez (1985), al encontrar un comportamiento similar del d-limoneno pero en otras plagas de insectos de postcosecha, por la vía de inhalación. Garza (1985), encontró igualmente este comportamiento en Heliothis virescens (Fab.), utilizando d-limoneno sin diluir, pero en aplicaciones tópicas.

Tabla 5. Determinación de la DL<sub>50</sub> y DL<sub>90</sub> de d-limoneno en *Sitophilus granarius* en pruebas de inhalación

Dosis (ml)	No. de Insectos usados	No. de Insectos muertos	Mortalidad (%)	Log. (+1) de las dosis (X)	Probit (Y)	Probit estimado $\hat{Y} = \hat{a} + bX$	Límite de confianza $\alpha = .05$
1.5	120	0	0.0	0.1760	-		
3.125	120	4	3.33	0.4948	3.1616	3.010	11.87 - 10.81
6.25	120	11	9.16	0.7958	3.6654	4.079	
12.5	120	84	70	1.0969	5.5244	5.149	
25	120	104	86.6	1.3979	6.1077	6.219	26.52 - 25.47
50	120	120	100	1.6989	-		

$$a = 1.2519$$

$$b = 3.5535$$

$$Y = 5.0$$

$$5.0 = 1.2519 + 3.5535 X$$

$$X = \frac{5.0 - 1.2519}{3.5535} = 1.054$$

$$\text{Antilog. } 1.054 = 11.34$$

$$\text{DL}_{50} = 11.34 \%$$

$$a = 1.2519$$

$$b = 3.5535$$

$$Y = 6.28$$

$$6.28 = 1.2519 + 3.5535 X$$

$$X = \frac{6.28 - 1.2519}{3.5535} = 1.414$$

$$\text{Antilog. } 1.414 = 25.99$$

$$\text{DL}_{50} = 26 \%$$

TABLA 6. Mortalidad de Sitophilus granarius L. producida por d-limoneno 24 horas después del tratamiento del grano. mortalidad respectivamente.

A) Datos originales		B) Datos transformados	
Volumen (ml)	Mortalidad (%)	Dosis (Logaritmo + 1)	Mortalidad (Probit)
0.09	0.0	-	-
0.18	4.0	0.2552	3.2493
0.36	12.8	0.5563	3.8641
0.54	30.4	0.7323	4.4871
0.72	47.2	0.8573	4.9298
1.8	66.4	1.2352	5.4234
3.6	87.2	1.5563	6.1359
7.2	96	1.8573	6.7507

En esta tabla puede observarse como al aplicar dosis bajas de d-limoneno sobre el grano, la sensibilidad del insecto pareció no ser afectada, pues los promedios de mortalidad obtenidos fueron 0.0, 4.0 y 12.8%, correspondientes a dosis de 0.09, 0.18 y 0.36 ml respectivamente; pero al incrementar paulatinamente las dosis, el efecto producido fue notorio puesto que volúmenes de 0.54, 0.72 y 1.8 ml de d-limoneno, produjeron en ese mismo orden mortalidades de 30.4, 47.2 y 66.4%. Las respuestas más altas fueron obtenidas al aplicar volúmenes de d-limoneno de 3.6 y 7.2 ml, resultando en mortalidades de 87.2 y 96% respectivamente. Este resultado que puede tener una explicación parcial en el hecho

nes de 3.6 y 7.2 ml, que a su vez originaron 87.2 y 96% de mortalidad respectivamente.

Idem a la sección 4.1. aparecen estos datos ordenados en la Tabla 6 b, de donde fueron extraídos para integrarlos al análisis probit-log y de esta manera obtener los valores de las diferentes dosis letales.

En la Tabla 7 aparecen los valores correspondientes a la  $DL_{50} = 1.04$  ml y  $DL_{90} = 4.13$  ml. Los límites de confianza, el coeficiente y ecuación de la línea de regresión, están contenidos asimismo en esta tabla.

Al cotejar la pendiente de la línea de regresión de ambos procesos (Figuras 2 y 3), puede observarse que es mayor al aplicar el tóxico por contacto. Esto sugiere que es más homogénea la respuesta del insecto en este proceso; pues la posición de la línea indica la toxicidad del producto, y entre mayor sea el valor de la pendiente mayor homogeneidad.

Considerando ahora los valores correspondientes a las diferentes dosis letales obtenidas en ambos procesos, resulta evidente la diferencia existente entre estas cantidades. Al comparar las  $DL_{50}$  en las pruebas por contacto y en las de inhalación, se observa claramente la diferencia en toxicidad; resultado que puede tener una explicación parcial en el hecho

TABLA 7. Determinación de la DL<sub>50</sub> Y DL<sub>90</sub> de d-limoneno en Sitophilus granarius en pruebas por inhalación.

Dosis (ml)	No. de Insectos usados	No. de Insectos muertos	Mortalidad (%)	Log. (+1) de las dosis (X)	Probit (Y)	Probit estimado $\hat{Y} = \hat{a} + b X$	Límite de confianza $\alpha = .05$
0.09	125	0	0.0	-	-	-	
0.18	125	5	4.0	0.2552	3.2493	3.3544	
0.36	125	16	12.8	0.5563	3.8641	4.0018	1.57 - 0.512
0.54	125	38	30.4	0.7323	4.4871	4.3801	
0.72	125	59	47.2	0.8573	4.9298	4.6489	
1.8	125	83	66.4	1.2552	5.4234	5.5043	
3.6	125	109	87.2	1.5563	6.1359	6.1517	
7.2	125	120	96	1.8573	6.7507	6.7988	4.66 - 3.60

a = 2.8058

b = 2.1499

Y = 5.0

5.0 = 2.8058 + 2.1499 X

X =  $\frac{5.0 - 2.8058}{2.1499} = 1.020$

Antilog 1.020 = 10.48

DL<sub>50</sub> = 1.04 ml.

Y = 2.8058 + 2.1499 X

a = 2.8058

b = 2.1499

Y = 6.28

6.28 = 2.8058 + 2.1499 X

X =  $\frac{6.28 - 2.8058}{2.1499} = 1.615$

Antilog 1.615 = 41.30

DL<sub>90</sub> = 4.13 ml.

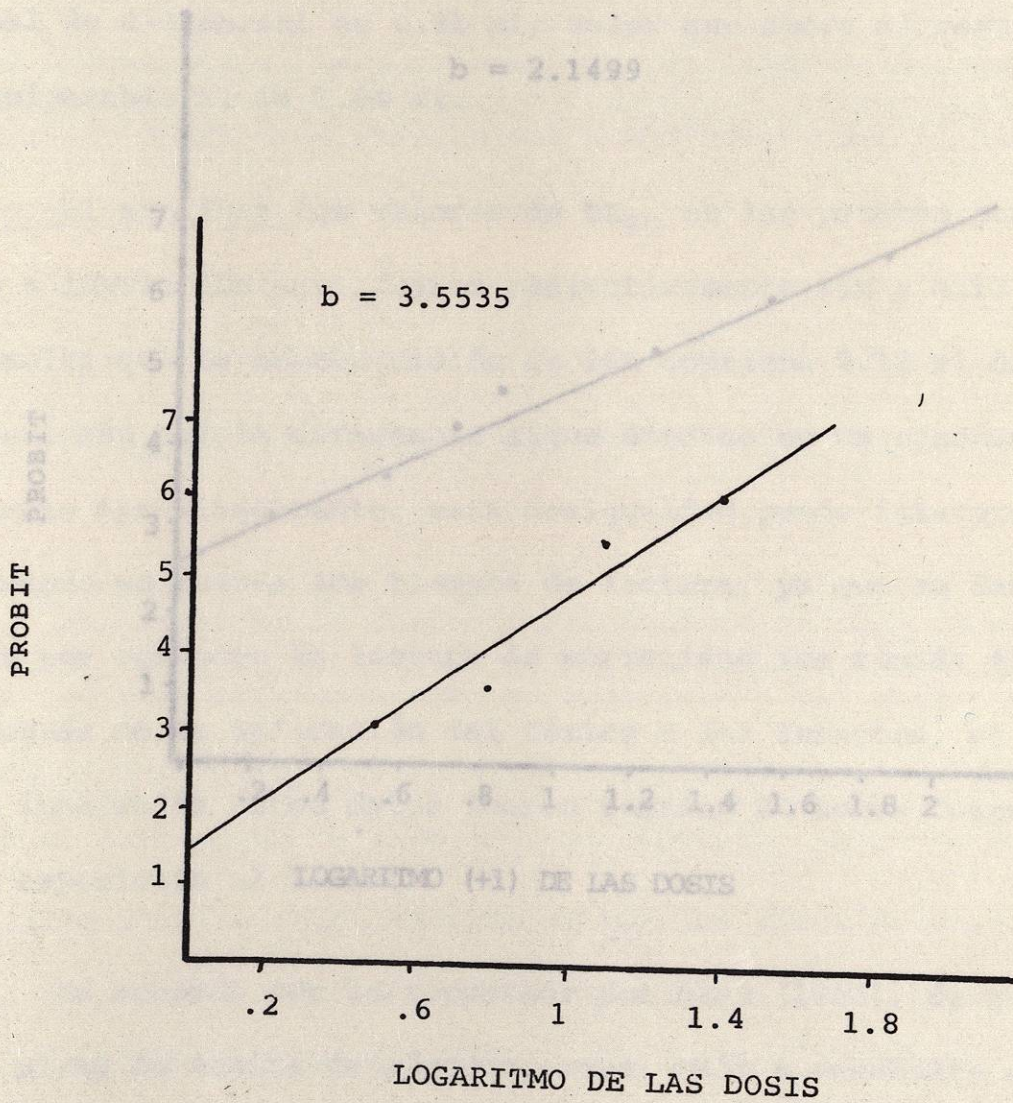
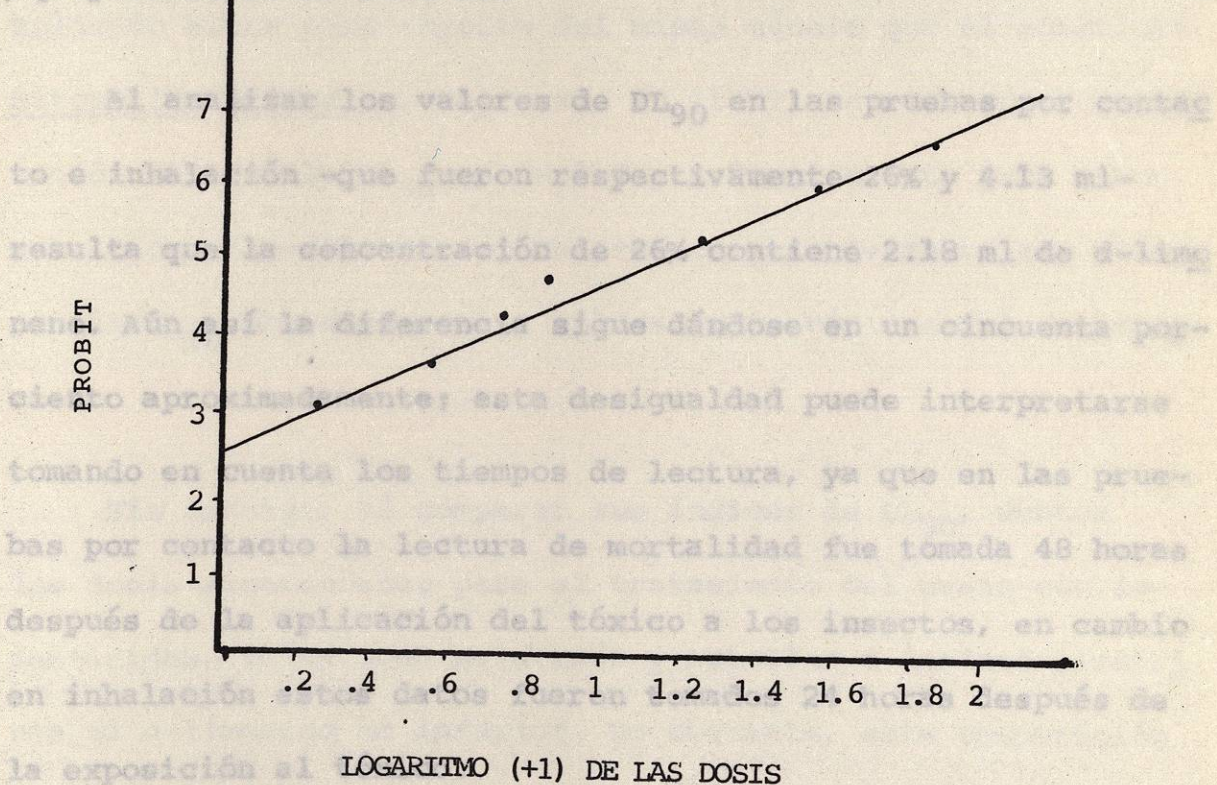


FIGURA 3. Línea de regresión probit-log en las pruebas por inhalación.

FIGURA 2. Línea de regresión probit-log en las pruebas por contacto.

de haber utilizado producto diluido (concentraciones) en el primer caso y producto puro en el segundo. Pero tomando en cuenta las proporciones diluidas de  $\delta$ -limoneno y alcohol etílico (Tabla 3), el valor de 11.34% le corresponde una cantidad real de  $\delta$ -limoneno de 0.91 ml, valor que ahora si resulta equiparable al de 1.04 ml.



De acuerdo con lo reportado por Díaz (1985), de que 10 ml/kg de aceite de algodón, soya, maíz o cacahuete son su-

FIGURA 3. Línea de regresión probit-log en las pruebas por inhalación.

granarius del maíz almacenado. El  $\delta$ -limoneno resulta un producto mucho más eficaz en este terreno ya que bastan solamente 4.13 ml para suprimir el 90% de los mismos insectos en el mismo grano. Cabe dilucidar que ésta comparación de productos,



de haber utilizado producto diluido (concentraciones) en el primer caso y producto puro en el segundo. Pero tomando en cuenta las proporciones diluidas de d-limoneno y alcohol etílico (Tabla 3), al valor de 11.34% le corresponde una cantidad real de d-limoneno de 0.91 ml, valor que ahora si resulta equiparable al de 1.04 ml.

Al analizar los valores de  $DL_{90}$  en las pruebas por contacto e inhalación -que fueron respectivamente 26% y 4.13 ml- resulta que la concentración de 26% contiene 2.18 ml de d-limoneno. Aún así la diferencia sigue dándose en un cincuenta por ciento aproximadamente; esta desigualdad puede interpretarse tomando en cuenta los tiempos de lectura, ya que en las pruebas por contacto la lectura de mortalidad fue tomada 48 horas después de la aplicación del tóxico a los insectos, en cambio en inhalación estos datos fueron tomados 24 horas después de la exposición al tóxico.

De acuerdo con lo reportado por Díaz (1985), de que 10 ml/kg de aceite de algodón, soya, maíz o cacahuate son suficientes para suprimir y repeler por 60 días a Sitophilus granarius del maíz almacenado. El d-limoneno resulta un producto mucho más eficaz en este terreno ya que bastan solamente 4.12 ml para suprimir el 90% de los mismos insectos en el mismo grano. Cabe dilucidar que ésta comparación de productos,

es realizado tomando como fundamento que el d-limoneno es un producto clasificado dentro de la categoría de los aceites de origen botánico.

Otro producto vegetal sobre el cual el d-limoneno resulta más eficaz, es el extracto puro y purificado de la pimienta, aplicado sobre otro insecto del mismo género que el anterior; Sitophilus orizae L., del cual, Su (1977) reporta que en aplicación tópica, la  $DL_{50}$  es de 3.4 y 4.8 mg/insecto para ambos extractos respectivamente. Valores comparativamente muy altos con la  $DL_{50}$  obtenido en las aplicaciones tópicas del d-limoneno.

Sin embargo, al comparar sus índices de  $DL_{90}$ , contra las dosis recomendadas para el tratamiento del grano con insecticidas, tales como Malathión y Actellic e incluso piretrinas el d-limoneno es inferior. No obstante, esta comparación es desventajosa en el sentido de que las formulaciones comerciales referidas, tienen una mezcla insecticida estandarizada, con todos sus agentes coadyuvantes.

#### 4.3. Tiempo de lectura en las pruebas por contacto.

El análisis de varianza para los tratamientos propuestos en la metodología, arrojó una alta significancia en sus efectos en forma conjunta, rechazando por lo tanto, la hipótesis

nula y corroborando el resultado esperado, puesto que la mortalidad fue contrastante para las concentraciones intermedias y los tres primeros tiempos de lectura (Tabla 8).

TABLA 8.- Análisis de varianza para observar el efecto de los tratamientos en forma conjunta.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.Cal.	F. Tab. =0.01
Media	1	132930.73			
Media	1	132930.73			
Tratamientos	23	113300.2	4926.093	223.83**	1.94
Tratamientos	23	113300.2	4926.095	223.83**	1.94
Error	120	2640.92	22.0076		
Error	120	2640.92	22.0076		
Total	124	248871.85			
Total	124	248871.85			

\*\* Altamente significativo.

Se pudo confirmar también el comportamiento toxicológico típico del d-limoneno, ya que a medida que se incrementó su dosis, el tiempo de lectura perdió importancia avalando el análisis de regresión probit-log, (Gráficas 2 y 3 y Tabla 12).

Continuando con el análisis, se procedió a desglosar el factorial en sus diferentes componentes -tiempo, concentración y la interacción de ambos- encontrándose una alta significancia en los efectos producidos por éstos sobre la mortalidad de S. granarius, (Tabla 9). Lo anterior justificó este estudio y además fundamentó la comparación de medias para deter-

minar estadísticamente el mejor tiempo de lectura, debido a que fue este el objeto de estudio.

TABLA 9. Análisis de varianza desglosando el factorial en sus diferentes componentes para observar el efecto de cada uno de ellos separadamente.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F. Cal.	F. Tab. =0.01
Media	1	132930.73			
Tratamientos	23	113300.2	4926.093		
Factor A	3	15272.113	5090.71	230.59**	3.94
Factor B	5	84971.78	16994.36	769.81**	2.95
A x B	15	13056.29	870.42	39.43**	2.23
Error	120	2640.92	22.0076		
Total	124	248871.85			

\*\* Altamente significativo.

En la comparación por el método de Tukey, se encontró que los tiempos 3 y 4 fueron los que produjeron los más altos porcentajes de mortalidad, no existiendo diferencia estadística significativa entre ambos. Pero tomando en cuenta que este factor en este caso no representa una carga económica, el tiempo 4 resultó ser el más apropiado, (Tabla 10), siendo éste el correspondiente a la lectura de mortalidad tomada 48 horas después de la aplicación del tóxico.

TABLA 10. Comparación de medias para el factor tiempo.

Tratamientos	Medias	=.01	Valor Tukey	=.01
T <sub>19</sub> , T <sub>20</sub> , T <sub>21</sub> , T <sub>22</sub> , T <sub>23</sub> , T <sub>24</sub>	40.60	a	3.52	
T <sub>13</sub> , T <sub>14</sub> , T <sub>15</sub> , T <sub>16</sub> , T <sub>17</sub> , T <sub>18</sub>	38.30	a b		
T <sub>7</sub> , T <sub>8</sub> , T <sub>9</sub> , T <sub>10</sub> , T <sub>11</sub> , T <sub>12</sub>	28.11	c		
T <sub>1</sub> , T <sub>2</sub> , T <sub>3</sub> , T <sub>4</sub> , T <sub>5</sub> , T <sub>6</sub>	14.51	d		

Con respecto al factor concentración, (Tabla 11), puede observarse como al aumentar la concentración, se incrementa también la mortalidad; las medias de mortalidad más elevadas corresponden a las concentraciones 4, 5 y 6 existiendo diferencia significativa entre las tres. Incluso como ya se señaló en la sección 4.1. la mortalidad producida por las dosis 3 y 4, es decir 6.25 y 12.5% de d-limoneno, se incrementa bruscamente, lo cual nos indica que en este rango existe un umbral en el cual el producto muestra su agresividad toxicológica.

En cuanto a la interacción: concentración-tiempo de lectura, se descubrió que el efecto de esta combinación está dada, más por el efecto del producto que por el tiempo de exposición de los insectos al mismo. En la Tabla 12 puede apreciarse como a medida que la dosis se incrementa, el tiempo pierde importancia. Así por ejemplo la concentración más alta, al combinarla con los tiempos de lectura 3 y 4 posee las medias de mortalidad más altas, y de igual valor; la misma concentración combinada con el tiempo 2 es el valor de mortalidad que le sigue, lo mismo sucede con la concentración 5 y 4. En las concentraciones intermedias es donde se observó que el tiempo incluyó más en la respuesta de mortalidad, pero son las combinaciones que producen también los más bajos porcentajes.

TABLA 11. Comparación de medias para el factor concentración.

Tratamientos	Medias	Medias =.01	Valor Tukey =.01
T <sub>24</sub> , T <sub>18</sub> , T <sub>12</sub> , T <sub>6</sub>	70.66	a	4.66
T <sub>23</sub> , T <sub>17</sub> , T <sub>11</sub> , T <sub>5</sub>	51.83	b	
T <sub>22</sub> , T <sub>16</sub> , T <sub>10</sub> , T <sub>4</sub>	34.21	c	
T <sub>21</sub> , T <sub>15</sub> , T <sub>9</sub> , T <sub>3</sub>	10.88	d	
T <sub>20</sub> , T <sub>14</sub> , T <sub>8</sub> , T <sub>2</sub>	8.27	d	
T <sub>19</sub> , T <sub>13</sub> , T <sub>7</sub> , T <sub>1</sub>	6.42	d	

En cuanto a la interacción: concentración-tiempo de lectura, se descubrió que el efecto de esta combinación está dada, más por el efecto del producto que por el tiempo de exposición de los insectos al mismo. En la Tabla 12 puede apreciarse como a medida que la dosis se incrementa, el tiempo pierde importancia. Así por ejemplo la concentración más alta, al combinarla con los tiempos de lectura 3 y 4 posee las medias de mortalidad más altas, y de igual valor; la misma concentración combinada con el tiempo 2 es el valor de mortalidad que le sigue, lo mismo sucede con la concentración 5 y 4. En las concentraciones intermedias es donde se observó que el tiempo incluyó más en la respuesta de mortalidad, pero son las combinaciones que producen también los más bajos porcenta

TABLA 12. Comparación de medias para la interacción tiempo de lectura-concentración.

Tratamientos	Medias	0.01	Valor Tukey =0.01
T <sub>24</sub> = a <sub>4</sub> b <sub>6</sub>	83.58	a	11.32
T <sub>18</sub> = a <sub>3</sub> b <sub>6</sub>	83.58	a	
T <sub>12</sub> = a <sub>2</sub> b <sub>6</sub>	76.32	a b	
T <sub>23</sub> = a <sub>3</sub> b <sub>5</sub>	69.40	b	
T <sub>17</sub> = a <sub>3</sub> b <sub>5</sub>	68.19	b c	
T <sub>22</sub> = a <sub>4</sub> b <sub>4</sub>	57.29	c d	
T <sub>16</sub> = a <sub>3</sub> b <sub>4</sub>	50.82	d	
T <sub>11</sub> = a <sub>2</sub> b <sub>5</sub>	50.79	d e	
T <sub>6</sub> = a <sub>1</sub> b <sub>6</sub>	39.17	f	
T <sub>10</sub> = a <sub>2</sub> b <sub>4</sub>	19.08	g	
T <sub>5</sub> = a <sub>1</sub> b <sub>5</sub>	18.96	g	
T <sub>21</sub> = a <sub>4</sub> b <sub>3</sub>	16.31	g	
T <sub>15</sub> = a <sub>3</sub> b <sub>3</sub>	12.23	g	
T <sub>20</sub> = a <sub>4</sub> b <sub>2</sub>	10.58	g	
T <sub>4</sub> = a <sub>1</sub> b <sub>4</sub>	9.67	g	
T <sub>14</sub> = a <sub>3</sub> b <sub>2</sub>	8.58	g	
T <sub>9</sub> = a <sub>2</sub> b <sub>3</sub>	8.58	g h	
T <sub>8</sub> = a <sub>2</sub> b <sub>2</sub>	7.50	h	
T <sub>19</sub> = a <sub>4</sub> b <sub>1</sub>	6.42	h	
T <sub>13</sub> = a <sub>3</sub> b <sub>1</sub>	6.42	h	
T <sub>7</sub> = a <sub>2</sub> b <sub>1</sub>	6.42	h	
T <sub>3</sub> = a <sub>1</sub> b <sub>3</sub>	6.42	h	
T <sub>2</sub> = a <sub>1</sub> b <sub>2</sub>	6.42	h	
T <sub>1</sub> = a <sub>1</sub> b <sub>1</sub>	6.42	h	

jes de mortalidad. El tiempo 1 es el que menos influencia ejerce, debido a que esta lectura fue tomada una hora después de aplicar el producto; contrastando con las otras lecturas que fueron más espaciadas.

Considerando las limitaciones generales del estudio, tales como condiciones bajo las cuales se efectuaron los experimentos, formulaciones insecticidas del d-limoneno y sesgos experimentales referidos en las recomendaciones, se señalan a continuación las conclusiones derivadas de los resultados de la investigación.

1.- Las  $DL_{50}$  de 11.34% en las aplicaciones tópicas y 1.04 ml en los tratamientos del grano, demostraron una acción tóxica reducida del d-limoneno en S. granarius.

2.- Al comparar las  $DL_{50}$  de los dos tipos de tratamientos se deduce que el d-limoneno resultó más tóxico al aplicarse tópicamente cuando se consideran los volúmenes reales del producto. No obstante, el sentido práctico de los tratamientos al grano, orientados a combatir S. granarius apoya la recomendación de la  $DL_{50}$  en inhalación para futuros estudios; con la premisa de mejorar aspectos técnicos experimentales, como asegurar el nulo contacto del producto con el insecto, requisitos necesarios para explorar la factibilidad de su uso en depósitos de grano más grandes y almacenes comerciales.

3.- Con relación a las  $DL_{90} = 26\%$  y  $DL_{90} = 4.13$  ml, por contacto e inhalación respectivamente y, considerando los vo-



## 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Considerando las limitaciones generales del estudio, tales como condiciones bajo las cuáles se efectuaron los experimentos, formulaciones insecticidas del d-limoneno y sesgos experimentales referidos en las recomendaciones, se señalan a continuación las conclusiones derivadas de los resultados de la investigación.

1.- Las  $DL_{50}$  de 11.34% en las aplicaciones tópicas y 1.04 ml en los tratamientos del grano, demostraron una acción tóxica reducida del d-limoneno en S. granarius.

2.- Al comparar las  $DL_{50}$  de los dos tipos de tratamientos se deduce que el d-limoneno resultó más tóxico al aplicarse tópicamente cuando se consideran los volúmenes reales del producto. No obstante, el sentido práctico de los tratamientos al grano, orientados a combatir S. granarius apoya la recomendación de la  $DL_{50}$  en inhalación para futuros estudios; con la premisa de mejorar aspectos técnicos experimentales, como asegurar el nulo contacto del producto con el insecto, requisitos necesarios para explorar la factibilidad de su uso en depósitos de grano más grandes y almacenes comerciales.

3.- Con relación a la  $DL_{90} = 26\%$  y  $DL_{90} = 4.13$  ml, por contacto e inhalación respectivamente y, considerando los vo-

lúmenes reales del producto para cada valor, resultó también más tóxico el producto por la vía tópica. Sin embargo, si en el tratamiento del grano de futuros experimentos se considera un tiempo de exposición de los insectos al d-limoneno, más allá de 24 horas es probable necesitar menos producto para matar igual número de insectos.

Incluso al reflexionar sobre la posibilidad de usar productos sinergistas, es recomendable investigar con estas sustancias con el fin de encontrar alguno(s) compatible(s) con el d-limoneno y aumentar así su efectividad insecticida. Como sucede con las piretrinas al mezclarlas con butóxido de piperonilo.

4.- Tres observaciones apoyan la hipótesis de que el d-limoneno manifiesta cierta actividad fumigante:

1a. La aplicación fue hecha sobre la superficie del granel ya calculadas; la recomendación es referida en cuanto no, mientras que los insectos permanecieron hacia el fondo a explorar sobre los rangos donde se observan cambios bruscos del frasco.

2a. La toma de lecturas fue hecha en un período corto; 24 horas después de cada tratamiento, tiempo relativamente breve para desplazamientos muy largos del insecto.

3a. Los insectos muertos se hallaban en el fondo del frasco.

Sin embargo, para asegurar y evaluar tal acción fumigante, se recomienda experimentar con unidades de observación que confinen al insecto en volúmenes mayores de grano.

5.- Las lecturas de las tomas de datos efectuadas a las 36 y 48 horas fueron estadísticamente iguales y las mejores. Sin embargo, se recomienda que en futuras investigaciones con  $\alpha$ -limoneno en S. granarius, se realice la toma de datos a las 36 horas si el objetivo es determinar su potencia toxicológica aguda. Si por otra parte, se busca establecer la actividad total del producto, en el sentido de una toxicidad del tipo crónico, se pueden efectuar lecturas a las 48 horas e incluso después de este tiempo.

6.- Del factor concentración puede decirse que las tres más altas son las mejores por poseer los promedios de mortalidad más elevados. Pero dado que, al respecto existen dosis letales ya calculadas; la recomendación es referida en cuanto a explorar sobre los rangos donde se observan cambios bruscos en la mortalidad del insecto.

7.- Finalmente se recomienda experimentar con otras plagas de granos almacenados, para obtener y comparar las diferentes dosis letales, sobre todo en pruebas por inhalación; porque al parecer S. granarius destaca entre los más resistentes.

tes, ya que al tratar de realizar pruebas múltiples en este mismo experimento, dosis entre 1.8 y 3.6 ml fueron suficientes para causar el 100% de mortalidad en especies como Tri-  
bolium spp. y Rhizopertha dominica (Fab.).

En el primer estudio se probó la toxicidad de d-limoneno en Sitophilus granarius L., mediante dos formas de aplicación: tópica o dermal e indirecta o inhalación. En el primer caso, se utilizó el d-limoneno diluido con alcohol etílico, ensayando siete concentraciones - 0, 1.5, 3.125, 6.25, 12.5, 25 y 50% - con seis repeticiones y en unidades experimentales de 20 insectos y, suministrando a cada uno 0.8 micro litros.

En el segundo estudio se emplearon 9 volúmenes de d-limoneno 92% (forma más pura) - 0.09, 0.18, 0.36, 0.54, 0.72, 1.8, 3.6 y 7.2 ml - con cinco repeticiones y aplicándose el producto en la superficie de 1 kg de grano dispuesto en frascos de vidrio con capacidad de 3.6 ml.

La mortalidad producida a las 48 horas en las aplicaciones tópicas y 24 horas en la prueba de inhalación, se analizó utilizando la línea de regresión probit-log, encontrando las  $DL_{50}$  y  $DL_{90}$  para cada estudio; siendo estas 11.34 y 26% y 1.04 y 4.13 ml. en el orden estricto.

Estos índices demostraron una reducida toxicidad en S. granarius.

6. RESUMEN

cuando se le compara con algunos organosintéticos típicos; aunque mejores propiedades fueron encontrados al compararlo con algunos organosintéticos naturales.

Esta investigación se realizó en el Laboratorio de Cría Masiva de Insectos, en la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León. Se probó la toxicidad de d-limoneno en Sitophilus granarius L., mediante dos formas de aplicación: tópica o dermal e indirecta o inhalación. En el primer caso, se utilizó el d-limoneno diluido con alcohol etílico, ensayando siete concentraciones - 0, 1.5, 3.125, 6.25, 12.5, 25 y 50% - con seis repeticiones y en unidades experimentales de 20 insectos y, suministrando a cada uno 0.8 micro, litros.

En el segundo estudio se emplearon 9 volúmenes de d-limoneno 92% (forma más pura) - 0.09, 0.18, 0.36, 0.54, 0.72, 1.8, 3.6 y 7.2 ml - con cinco repeticiones y aplicándose el producto en la superficie de 1 kg de grano dispuesto en frascos de vidrio con capacidad de 3.6 ml.

La mortalidad producida a las 48 horas en las aplicaciones tópicas y 24 horas en la prueba de inhalación, se analizó utilizando la línea de regresión probit-log, encontrando las DL<sub>50</sub> y DL<sub>90</sub> para cada estudio; siendo estas 11.34 y 26% y 1.04 y 4.13 ml. en el orden estricto.

Estos índices demostraron una reducida toxicidad en S. granarius.

cuando se le compara con los insecticidas organosintéticos típicos; aunque mejores propiedades fueron encontrados al con Adams, J.M. 1977. A review of literatura concerning losses in frontarlo con algunos organosintéticos naturales.

stored cereales, and pulses published. Tropical Sciences.

En las pruebas tóxicas se registraron además las mortalidades originadas a la 1, 24, 36 y 48 horas, estableciendo Alderman, G.G., and S.H. North. 1976. Inhibition of Growth mediante un análisis de varianza que las mejores lecturas fueron 36 y 48 horas, optando por tomar como la lectura más apropiada, el tiempo de 48 horas después de la aplicación del tóxico. no. 1978. Stored grain insects. United States of Agri-

cultural Research Service, Agricultural Handbook No. 500

1-3 pp.

Arenas L., C. 1984. Extractos acuosos y polvos vegetales con propiedades insecticidas: una alternativa por explotar. Tesis Biólogo. Facultad de Ciencias Biológicas, U.N.A.M. México, D.F. 3-7 pp.

Bonnier, G. y O. Tedin. 1966. Bioestadística. Acribia. México. 169-180 pp.

Braverman J., B.S. 1952. Los agrilos y sus derivados, composición y tecnología química. Aguilar, Madrid. 43-45; 66-77 pp.

\_\_\_\_\_. 1967. Introducción a la química de los alimentos.

## 7. BIBLIOGRAFIA

Adams, J.M. 1977. A review of literatura concerning losses in stored cereales, and pulses published. Tropical Sciences. Vol. 19:1-27.

Alderman, G.G., and E.H. Morth. 1976. Inhibition of Growth and Aflatoxin Production of Aspergillus parasiticus by Citrus Oils. Z. Lebesm. Unters-Forsch.(160):353-358.

Anónimo. 1978. Stored grain insects. United States of Agricultural Research Service. Agricultural Handbook No. 500 1-3 pp.

Arenas L., C. 1984. Extractos acuosos y polvos vegetales con propiedades insecticidas: una alternativa por explotar. Tesis Biólogo. Facultad de Ciencias Biológicas, U.N.A.M. México, D.F. 3-7 pp.

Bonnier, G. y O. Tedin. 1966. Bioestadística. Acribia. México. 169-180 pp.

Braverman J., B.S. 1952. Los agrios y sus derivados, composición y tecnología química. Aguilar. Madrid. 43-45; 66-77 pp.

\_\_\_\_\_. 1967. Introducción a la química de los alimentos.

Aguilar, Madrid. p. 219-220. Countries. A C P Document.

Misc./27. p. 143.

Busvine, J.R. 1971. A critical review of the techniques for testing insecticides. Commonwealth Agricultural Bureaux, Great Britain. 263-287 pp.

Coronado P., R. y A. Márquez. 1975. Introducción a la Entomología; Morfología y Taxonomía de insectos. Limusa. México. 118-119; 168-169 pp. Facultad de Agronomía, U.A.N.L.

Marín, N.L. p. 34.

Cotton, R. 1979. Silos y Graneros. Plagas y Desinfección.

Oikos-Tau. Barcelona. pp. 35, 36 y 110. insecticida sobre

*Heliothis virescens* (Fab.). Tesis Ingeniero Agrónomo Pa-

rasitólogo. Facultad de Agronomía, U.A.N.L. Marín, N.L. ca. Limusa. México. 63-75; 267-270 pp.

p. 57.

Estrada G., F. 1984. Prueba comparativa de dos insecticidas: Actellic 50% C.E. y Malathión 4% P. sobre la mortalidad de los gorgojos Sitophilus spp. en maíz almacenado. Tesis Ingeniero Agrónomo Parasitólogo. Facultad de Agronomía, U.A.N.L. Marín, N.L. pp. 8-14.

Jamieson, M. y P. Hobber. 1985. Manejo de los alimentos; ecología del almacenamiento. Vol. I. Pax, México. pp. 5, 18-21.

Food and Agriculture Organization of the United Nations. 1977. Manual de fumigación contra insectos. 2a. ed. Roma. pp. 18-19; 67-78; 102-106.

Kesterson, J.W., Hendrickson, R. and R.J. Bradbock. 1975.

\_\_\_\_\_. 1977. Analysis of an F.A.O. Survey of Postharvest Florida citrus Oil. Agricultural Experiment Stations.



crop losses in developing countries. A G P Document, Misc./27. p. 143.

Finney, D.J. 1971. Probit Analysis. 3th. ed. Cambridge University Press, London. 307 p.

Garrido S., I. 1985. Pruebas de toxicidad de un nuevo insecticida sobre Sitophilus granarius L. Tesis Ingeniero Agrónomo Parasitólogo. Facultad de Agronomía, U.A.N.L. Marín, N.L. p. 34.

Garza F., G. 1985. Toxicidad de un nuevo insecticida sobre Heliothis virescens (Fab.). Tesis Ingeniero Agrónomo Parasitólogo. Facultad de Agronomía, U.A.N.L. Marín, N.L. p. 57.

Gutiérrez M., R. 1973. Evaluación de 3 insecticidas en dos dosis en el control del gorgojo del arroz Sitophilus orizae L. Tesis, Ingeniero Agrónomo Parasitólogo. Facultad de Agronomía, U.A.N.L. Marín, N.L. pp. 8-14.

Jamienson, M. y P. Hobber. 1985. Manejo de los alimentos; ecología del almacenamiento. Vol. I. Pax, México. pp. 5, 18-21.

Kesterson, J.W., Hendrickson, R. and R.J. Bradbock. 1975. Florida Citrus Oil. Agricultural Experiment Stations.

- Institute of Food and Agricultural Sciences. University of Florida. pp. 6, 57, 82, 90 y 105.
- Kurtz, O' D.L. and K.L. Harris. 1967. Micro-Analytical Entomology for Food Sanitation Control. Association of Official Agricultural Chemists. 12-135 pp.
- Linbland, C. y L. Drublen. 1981. Almacenamiento del grano. Concepto. México. pp. 7-11.
- Lagunes, T., A. 1982. Manejo de insecticidas piretroides. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México. p. 28.
- Loya R., J.G. 1973. Efecto de los rayos Gamma sobre Zabrotas subfasciatus (Boh) y algunas observaciones sobre su comportamiento biológico. Tesis M.C. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México. p. 2 y 3.
- Martínez P., S. 1984. Busqueda de plantas medicinales con propiedades insecticidas contra el gusano cogollero del maíz Spodoptera frugiperda (Smith). Tesis M.C. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México. pp. 8-10.
- Metcalf, C.L. y W.P. Lint. 1963. Insectos destructivos e insectos útiles. Sus costumbres y su control. C.E.C.S.A. México. pp. 280, 281 y 1046.

- Núñez R., C. 1983. D- $\alpha$ -terpineno 1,8-dieno-1-metil-para-iso-propenil-1-ciclohexano sobre algunos insectos plaga de postcosecha. Primera reunión sobre la problemática de plagas Sánchez A., R. 1982. Uso para 10 grupos de insecticidas toxicológicas diferentes en gusano cogollero del maíz postcosecha. Irapuato, Gto. México.
- Praloran, J.C. 1977. Agrios, técnicas agrícolas y producción tropical. Blume. Barcelona. 419-437 pp.
- Prous, J.R. 1978. D-limoneno, medicamentos de actividad. *Prin-* 15(9):402-406. de los granos almacenados. Dirección General de Sanidad Vegetal. México. 11-13; 41-43 pp.
- Quezada A., R. 1982. Efecto de diferentes dosis de Malathión sobre la mortalidad y el daño del estado adulto de gorgojos Sitophilus spp. en grano de maíz almacenado. Tesis, Ingeniero Agrónomo Parasitólogo. Facultad de Agronomía, U.A.N.L. Marín, N.L. 12-20 pp.
- Speirs, R.D. and S.G. Wahny. 1972. Toxic Effects of Soybean
- Ramayo, R., L.F. 1983. Tecnología de granos. Universidad Autónoma de Chapingo. Chapingo, México. 1-6 pp.
- Ramírez G., M. 1982. Almacenamiento y conservación de granos y semillas. 9a. ed. C.E.C.S.A. México. 157-162; 201-225 pp.
- Romero R., F., M. García C. y L. López. 1970. Efecto de las radiaciones Gamma en el gorgojo del arroz, Sitophilus orizae L. Memoria del Simposio Latinoamericano sobre

manejo, almacenamiento y conservación de productos agrícolas. México. 323-332 pp.

Sánchez A., N. 1982.  $DL_{50}$  para 10 grupos de insecticidas toxicológicos diferentes en gusano cogollero del maíz Spodoptera frugiperda (Smith). Tesis M.C. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México. 44-47 pp.

Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. 1980. Principales plagas de los granos almacenados. Dirección General de Sanidad Vegetal. México. 11-13; 41-43 pp.

Shoonhoven, A.V. 1978. Use of vegetable oil to protect stored beans from bruchid attack. J. Econ. Entomol. 71(2):254-256.

Speirs, R.D. and P.G. Nahany. 1972. Toxic Effects of Soybean Saponin and Its Calcium Salt on the Rice Weevil. J. Econ. Entomol. 63(3):844-847.

Su, H.C.F. 1977. Insecticidal Properties of Black Pepper to Rice weevils and Cowpea Weevil. J. Econ. Entomol. 70(1): 18-21.

006934

