

## BIOANÁLISIS DE LOS RESIDUOS DE CUATRO INSECTICIDAS APLICADOS A MAIZ PARA CONSUMO DOMESTICO

Por José J. Ortiz H., Marcos Ramírez Genel y José Guevara Calderón

Se realizó un trabajo de bioanálisis de los residuos de insecticidas aplicados a grano de maíz cacahuazintle en Chapingo, México, utilizando adultos de *Drosophila melanogaster* Meig como insecto de prueba. Los insecticidas y los tratamientos empleados fueron: Alodán a 75 ppm, DDT a 75 ppm, Lindano a 10 ppm y Malatión a 8 ppm.

Los métodos de bioanálisis, para determinar los residuos tóxicos de insecticidas, son de gran importancia en aquellos productos alimenticios en los que no se cuenta con un método químico fácil y de suficiente confianza para determinar el residuo. Para aplicar estos métodos se utilizan aquellos insectos que son más fáciles de manejar, que tengan una alta capacidad de cultivo y reproducción en medios diversos y de buena sensibilidad a los tóxicos en investigación.

Estos análisis revisten gran importancia técnica, científica y práctica por el uso cada vez más intenso en México de los insecticidas sin ningún control legal de los residuos tolerables, en parte quizá, por falta de datos demostrables precisos para nuestras regiones que indiquen el tiempo preciso después del que un producto agrícola puede ser utilizado para consumo humano a salvo de cualquier efecto nocivo a la salud debido a un residuo tóxico de un insecticida.

La determinación del residuo tóxico es de primerísima importancia debido a que, no obstante que el residuo que permanece después de un período determinado no causa daño notorio, puede en realidad llegar a ocasionarlo dependiendo del insecticida empleado y la cantidad inicial de aplicación. Como ejemplo de toxicidad citaremos el DDT, que a una dosis de 5-10 ppm, no muestra alteraciones externas, pero sí las produce internamente en las células hepáticas. Estas alteraciones, que al principio sólo son microscópicas, se hacen más notorias a 50 ppm, considerándose aquí moderadas, y a 400 ppm llegan a ser pronunciadas, consistiendo esto en agrandamiento centrolobular, aumento de oxifilia, marginación periférica de gránulos basofílicos y tendencia a la hialinización del resto del citoplasma. Externamente sólo las dosis de 100 ppm producen ligero envenenamiento crónico.

El presente trabajo constituye un estudio, dentro del campo de los granos almacenados, tendiente a determinar el residuo tóxico que persiste a través de 6 meses de almacenamiento de maíz cacahuazintle en la región de Chapingo, Estado de México, de los insecticidas y las dosis siguientes: Alodán, 75 ppm; DDT, 75 ppm; Lindano, 10 ppm; y Malatión, 8 ppm.

### *Revisión de literatura*

El método de bioanálisis en la determinación de residuos de insecticidas, es una técnica utilizada desde hace pocos años. Sin embargo, últimamente se ha estado ensayando con diversos insectos en busca de aquéllos que reúnan los requisitos de

facilidad en el manejo, cultivo y reproducción bajo diversos medios y buena o mejor sensibilidad a los compuestos tóxicos en que se desean probar o investigar. Dewey (1958) menciona, a este respecto, la mosquita de los frutos *Drosophila melanogaster* Meig., la mosca doméstica *Musca domestica*, las larvas del mosquito de la fiebre amarilla de *Aedes aegypti*, la pulga de agua *Daphnia magna* y *D. pulex* y el crustáceo *Artemia salina*. Además, Sherman y Norton (1948) citan también a *Tribolium castaneum* y Fleming *et al* (1951), a *Macrocentrus ancylivorus*.

La mosquita de los frutos *Drosophila melanogaster* se ha usado con bastante amplitud como detector de los bioanálisis a partir que Bartlett (1951), utilizó la raza Canton-S para prueba de insecticidas; posteriormente, Pankaskie y Sun (1952) la proponen para microbioanálisis de residuos insecticidas, aspecto resaltado también por Dewey (1952) y Viale (1954) usando individuos de alas vestigiales; Oxon (1954) detecta BHC en vegetales; Dewey (1955) indica una manera de utilizar la mosquita de los frutos con resultados preliminares; Glasser *et al* (1955) detecta un metabolito tóxico de aldrín en las zanahorias; Young (1955) detecta heptacloro en suelos; Fisher y Smallman (1955) determinan Aldrín, Wylie (1956) BHC, Dieldrín, DDT, Clordano y Paratión en suelos; Dewey (1958) encuentra que *Drosophila melanogaster* se había empleado para 14 insecticidas y distintos productos, como frutas, vegetales, leche y tejidos animales.

Aunque de estos trabajos se desarrollaron diversos métodos de cría y de manejo de *Drosophila*, ya con anterioridad se habían desarrollado dichos aspectos en los trabajos de Genética. Así, Demerec y Kauffmann (1954) y Demerec (1950) mencionan medios de cría simples a base de frutas fermentadas como el plátano y medios sintéticos como el de harina de maíz con agar, plátano, melaza y moldex como inhibidor para hongos. También llaman la atención sobre otras dificultades en el cultivo aparte de los hongos. Asimismo se hace notar una duración de 15 días del ciclo cuando se cría a 20°C y 10 días a 25°C, recomendándose para el manejo, el bióxido de carbono.

Hardwood y Areekul (1957) aprovecharon mosquitas trampeadas. Gerölt (1957), las cría en harina de maíz-agar-Nipagín y las maneja con bióxido de carbono, además de aprovechar el fenómeno de fototactismo positivo de las mosquitas. Dewey (1958) también las cultivó en el medio de agar-harina de maíz, pero sólo utilizó el fototactismo positivo para el manejo.

La mosquita de la fruta, *Drosophila*, es bastante sensible para detectar residuos de insecticidas y para pruebas toxicológicas. Así, Pankaskie y Sun (1954) muestran que dicho insecto es 4-9 veces más sensible que la mosca doméstica y tanto como las larvas de *A. aegypti*, excepto con la técnica de fotomigración, detectando hasta 0.1 ppm de aldrín o dieldrín por exposición a tejidos tratados macerados hasta papilla; pero expuestas las mosquitas a residuos secos dejados por los solventes volátiles, detectan hasta 0.05 ppm de los mismos insecticidas. Además encuentran susceptibilidad semejante entre una raza silvestre y dos de laboratorio.

Bartlett (1951) también llama la atención sobre la alta sensibilidad de *Drosophila* por exposición a residuos dejados por solventes volátiles.

Wasserburger, en Dewey (1950), indica que *Daphnia magna* y *D. pulex*, son

más sensibles que *Musca* o *Drosophila* para el DDT, BHC o Paration. Gerolt (1957) encuentra los machos dos veces más sensibles que las hembras. Bartlett (1951), manifiesta la importancia de la humedad en el alimento, antes y durante los períodos de prueba como factor de variabilidad.

La edad y el tiempo de exposición empleados han sido también variables; así se encuentra que Bartlett (1951) y Fisher (1955) emplearon mosquitas de 2 días de edad, el primero con conteos periódicos de mortalidad acumulada y el segundo 20-24 horas. Sun y Pankaskie (1954), Viales (1954), Wylie (1956), Dewey (14) y Gerolt (1957), colocaron mosquitas de 1 día de edad con períodos de exposición de 18-48, 24, 25, 24 y 48 horas respectivamente.

Sun y Sun (1952) consideran que los depósitos con igual cantidad del mismo tóxico e igual cantidad y calidad de la sustancia extraída, deben dar mortalidad equivalente e indican los siguientes métodos de bioanálisis: 1) Método de Ranking de tipo cualitativo consistente en hacer 3 niveles estándar con muestras no tratadas con los que se compara los resultados de la muestra problema, con análisis por el método de Wilcoxon; 2) Método de la DL 50 para calcular trazas de residuos, que consiste en comparar la DL 50 de dos curvas, una con material tratado y la otra con no tratado; 3) Método de interpolación (método de la curva estándar de Dewey) que consiste en comparar la mortalidad de la muestra problema a una curva estándar de material no tratado previo análisis o no la curva estándar por medio del análisis de Probit. Además, en estos casos se puede aumentar la sensibilidad agregando cantidades conocidas del tóxico a la muestra tratada.

El criterio de mortalidad de los investigadores ha sido variable: Bartlett considera a las mosquitas que no pueden estar en pie; Fisher y Smallman a las inmóviles o las débiles atrapadas en el agua condensada de los recipientes; Sun y Pankaskie, las muertas y moribundas; y Dewey, sólo las completamente inmóviles.

Con respecto a la protección de los granos almacenados con insecticidas, Ramírez (1958), en Chapingo, México, empleó DDT, Lindano, Malatión y Pirenona como protectores de granos, encontrando que después de 6 meses, en maíz, el Lindano sobresale al Matocicloro y Pirenona y, el DDT a dosis de 50-75 ppm protege aún después de 16 meses. En Cotaxla, Ver., el Malatión sobresalió después de 5-6 meses a dosis de 5, 10 y 15 ppm.

Gunther *et al* (1958), aplicando Malatión y Lindano a grano de trigo y analizando químicamente el residuo, encontraron que con tratamientos de Lindano de 8 ppm a los 5½ y 11 meses, quedaba un residuo de 4.3 y 4.8 ppm respectivamente y en tratamientos de 12 ppm después de 5½ meses quedaba un residuo de 7.1 ppm. El Malatión en tratamientos de 8 ppm a los 5 y 6 meses, dio 2.8 y 1.9 ppm.

#### *Materiales y métodos*

*Preparación de las muestras de maíz para almacenaje.* Los tratamientos insecticidas se hicieron con muestras de 5 kg de maíz cacahuazintle limpio, con un contenido de humedad inicial de 14% determinada con el selector Boffon. Los insecticidas Alodán especial, 5% w.p.; DDT, 50% w.p.; Lindano, 25% w.p., y Malatión, 25% w.p., se aplicaron a las dosis de 75, 75, 10, 8 ppm, respectivamente. Esto

se hizo en dos frascos de boca ancha de capacidad conveniente donde se colocaba la mitad de la dosis y grano para mezclarlos uniformemente. Posteriormente, este material se fraccionó en pequeñas muestras de medio kilogramo que se colocaron en bolsas de tela. Cada mes se tomó una muestra de medio kilogramo de cada tratamiento y una del testigo para los bioanálisis.

*Cría de los insectos de prueba.* Se utilizó una línea natural de la mosquita de los frutos *Drosophila melanogaster* Meig., obtenida de ejemplares colectados en Veracruz por el Dr José Guevara e identificada por el Dr. Wheeler de la Universidad de Texas.

La cría se hizo en el medio de agar-harina de maíz-miel karo y Nipagín recomendado por Dewey (1958) con los cuidados respectivos (Geralt, 1957; Gunther *et al*, 1953; Viale, 1954). Otro medio de cultivo consistió en plátano semifermetado. Se utilizaron frascos de cultivo introduciendo de 90 a 100 mosquitas que, como prerrequisito reproductivo, se alimentaron por 1 día con una mezcla de Miel Karo-agua-levadura y posteriormente dejando sólo los frascos de cultivo a la luz natural antes de introducirlos a la cámara de cría. El ciclo de las mosquitas, en la cámara de cría, fue de 10 días aproximadamente a temperaturas de 25-28°C y humedad relativa de 60% aproximadamente.

*Preparación de las muestras para bioanálisis.* Las muestras de maíz de medio kilogramo se trituraron en molino de mano, colocándose el producto en un recipiente donde se mezcló por 10 minutos con agitador eléctrico para darle la mayor uniformidad posible. De ahí se tomaron 10 gr que se colocaron en vasos de ensaye de 50 ml agregándose 4 gr de puré de manzana Gerber y 6 ml de agua destilada, mezclando en seguida por 10 minutos con agitador eléctrico. En esa forma la concentración se redujo a un 50% constituyendo la dilución mínima para dar a la mezcla la consistencia conveniente. La mezcla así formada se aplicó en tiras de papel absorbente que se introdujeron en tubos de ensaye de 70 ml que contenían el número de insectos necesarios de un día de edad, tapando la boca del tubo con algodón.

*Conteos de mortalidad y criterio de muerte.* Los conteos de mortalidad se hacían a las 24 horas de exposición de las mosquitas a las muestras preparadas, considerándose aquéllas con inmovilidad completa y las que no se podían sostener en pie encontrándose en cualquier posición con movimientos muy lentos en sus miembros. Al final se mataron con calor los insectos vivos restantes para hacer un recuento total de las mosquitas en cada tubo.

*Método de Bioanálisis.* Se empleó el método de Interpolación (Sun y Sun 1952) o método de la Curva Estándar (Dewey, 1958) y el principio de exposición alimenticia directa (Sun y Sun, 1952). Dicho método de Bioanálisis consiste en obtener, de una curva estándar, la dosis correspondiente a la mortalidad obtenida en la muestra problema.

*Pruebas preliminares: Selección de dosis (Screening).* Previo al trabajo definitivo se hicieron pruebas preliminares a fin de hallar los puntos convenientes de la curva estándar y la DL 50 de cada insecticida, así como la proporción de los componentes de la mezcla de exposición que tuviese una consistencia adecuada al tra-

bajo. Se tomaron 150 insectos para cada dosis, repartidos en 3 repeticiones de 50 insectos.

Para estas pruebas se preparó la mezcla 10-10-10 de maíz molido-puré de manzana Gerber-agua destilada, mezcla que tenía la ventaja de ser bastante homogénea y fácil de licuar. Las dosis de cada insecticida se obtuvieron por diluciones sucesivas con maíz molido, a partir de una mezcla madre de 100 gr de maíz molido e insecticida, revuelta perfectamente con motor eléctrico. Los resultados de esas pruebas en logaritmo de la dosis probit, se pasaron a papel milimétrico para obtener resultados aproximados.

*Pruebas definitivas.* Para las pruebas definitivas se prepararon las muestras usando la mezcla 10-4-6 (maíz molido-puré Gerber-agua destilada), y, apoyándose en los datos preliminares, se trazaron las dosis relativas a la curva estándar con 6 puntos en progresión logarítmica obteniendo el aumento proporcional entre dosis con la siguiente forma:

$$Razón = \frac{\text{Log. dosis final} - \text{Log. inicial}}{N = (\text{N}^\circ \text{ de dosis menos } 1)}$$

Las dosis estándar se prepararon mensualmente a partir de una mezcla madre y son las siguientes: 1) Alodán. Mezcla madre 1,000 ppm. Dosis estándar 30, 47.5, 75.35, 119.5, 189.5 y 300 ppm; 2) DDT. Mezcla madre 10, 000 ppm. Dosis estándar 180, 253.7, 357.4, 503.7, 709.9 y 1,000 ppm; 3) Lindano. Mezcla madre 1,000 ppm. Dosis estándar 25.0, 30.7, 37.74, 46.4, 56.97 y 70 ppm; y 4) Malatión. Mezcla madre 1,000 ppm. Dosis estándar 20, 28.6, 40.95, 58.6, 83.85 y 120 ppm.

Debido a que las dosis de los tratamientos dieron baja mortandad para la muestra problema, se agregó 0.5 ml de acetona conteniendo una dosis de insecticida cerca a la DL 50, para así producir una mortalidad apreciable. Además, como la muestra al prepararse se diluye a una media parte de su concentración, se colocó doble dosis en el solvente volátil. Por ejemplo, en el Alodán se hizo una solución conteniendo 2.8 gr del insecticida al 5% en 50 ml de acetona, o sea que cada 0.5 ml llevaba 0.28 gr de Alodán al 5% suficiente para dar en 10 gr la cantidad de 140 ppm que al diluirse, daría 70 ppm. Esto correspondía a la dosis deseada, más las supuestas 37.5 ppm (75:2) del tratamiento inicial daría 107.5 ppm, dosis cercana a la DL 50. Para los demás insecticidas, la cantidad contenida en medio ml de acetona y las ppm proporcionadas a 10 gr de la muestra sin diluir, son las siguientes: 1) DDT 50% 0.014 gr en 0.5 ml para dar 700 ppm a 10 gr de la muestra; 2) Lindano 25% 0.0024 gr en 0.5 ml para dar 60 ppm a 10 gr de la muestra; 3) Malatión 25% 0.002 gr en 0.5 ml para dar 50 ppm a 10 gr de la muestra.

*Interpretación de resultados.* Siguiendo el método de evaluación del Residuo, se trazó mensualmente, para cada insecticida, una curva estándar de dosis conocidas con muestras no tratadas y al mismo tiempo se expusieron las mosquitas a la muestra de concentración desconocida o problema obtenido de los distintos tratamientos de maíz almacenado, siguiendo para todos los casos idénticos métodos de preparación de las muestras y condiciones ambientales, siendo estas últimas una temperatura del cuarto de 20-25°C y luz constante de 2 lámparas de 150 watts. Humedad Relativa, 60% aproximadamente.

Debido a que la muestra contenía una cantidad conocida cercana a la DL 50, ésta fue sustraída al final de los resultados de la lectura total (Cuadros) y la cantidad así obtenida se duplica por haberse hecho la dilución a un medio al prepararse las muestras para hacer una pasta homogénea.

Los resultados de la mortalidad mensual de las dosis conocidas se analizaron por el método de "Probit" obteniendo la línea de regresión y, graficándola, se obtuvo la concentración correspondiente a la mortalidad de la muestra problema. Este dato se contrastó con el numérico según la fórmula del "Probit's analysis" para obtener un dato de cualquier mortalidad conocida.

$$m = \bar{x} + \frac{Y - y}{b} \pm \text{en donde } m = \text{Log. de cualquier DL}$$

### Resultados

*Pruebas preliminares.* Los resultados graficados proporcionaron la DL 50, DL 20 y DL 80 para cada insecticida y fue útil como guía para proyectar los bioanálisis satisfactoriamente: Las dosis encontradas fueron las siguientes:

Alodán DL 50 = 97.50 ppm	DDT DL 50 = 430.50 ppm
DL 20 = 50.12 "	DL 20 = 218.80 "
DL 80 = 184.50 "	DL 80 = 845.30 "
Lindano DL 50 = 37.50 "	Malatión DL 50 = 29.38 "
DL 20 = 23.55 "	DL 20 = 15.29 "
DL 80 = 60.26 "	DL 80 = 53.09 "

2. Se observó que la mezcla para exposición formada por 10 partes de maíz molido, 4 de puré Gerber y 6 de agua era la más conveniente en cuanto a consistencia y, además, la concentración sólo se diluía a la mitad.

*Resultados de los bioanálisis mensuales.* En los bioanálisis realizados con *Drosophila melanogaster* Meig., se obtuvieron los siguientes resultados:

1. Las muestras problema de maíz molido al ser preparadas como pastas homogéneas disminuyen a la mitad su concentración original, disminuyendo también la sensibilidad, detectándose así sólo la mitad del residuo.

2. Por el método de exposición alimenticia directa en grano de maíz, se necesitan dosis elevadas de insecticida para ser detectadas por la mosquita *Drosophila melanogaster*. Debido a este problema, a cada muestra se le agregó una cantidad adicional de insecticida, así como a la dilución durante la preparación de las muestras y a las dosis de los tratamientos muy bajas, de acuerdo a los datos preliminares.

3. El Alodán mostró los residuos de 56, 44.4, 14, 29.2, 30.2 y 34.8 ppm (ver Cuadro 1).

4. El DDT dio 113.4, 120, 63.6, 90, 63.2 y 76 ppm (ver Cuadro 1).

5. El Lindano dio 18.2, 22.8, 17.1, 7.2, 8.1 y 7.2 ppm (ver Cuadro 1).

6. El Malatión dio 19.4, 17.6, 9.2, 7.4, 4.2 y 3.4 ppm (ver Cuadro 1).

7. Después de 6 meses de almacenamiento del grano de maíz en ninguno de los 4 tratamientos había desaparecido el residuo tóxico.

8. El DDT después de 6 meses conservó su residuo casi inalterado y en orden decreciente, le siguieron el Lindano, Malatión y Alodán.

9. El Alodán y Malatión, con la mayor tendencia a disminuir su residuo durante los 6 meses de almacenaje, bajaron su concentración aproximadamente a la mitad de la cantidad original.

10. El DDT, Lindano y Malatión dieron lecturas superiores a las originales en los primeros meses, según el método de evaluación del bioanálisis seguido.

11. Se encuentran datos discordantes de uno a otro mes en los residuos obtenidos con el método actual de trabajo.

### Conclusiones

De los resultados del bioanálisis de los residuos de insecticidas aplicados a granos de maíz cacahuaztles en Chapingo, Edo. de México, utilizando adultos de *Drosophila melanogaster* Meig. como insecto de prueba, se obtuvieron las siguientes lecturas durante los 6 meses de observación:

Alodán: 56.0, 40.4, 14.0, 29.2, 30.2 y 34.1 ppm.

DDT: 113.4, 120.0, 63.6, 90.0, 63.2 y 76.0 ppm.

Lindano: 18.1, 22.7, 17.1, 7.2, 8.1 y 7.2 ppm.

Malatión: 19.4, 17.5, 9.3, 7.4, 4.2 y 3.3 ppm.

De la interpretación de las lecturas anteriores, se observa que el DDT que protegía al grano de maíz, después de un período de 6 meses, permaneció inalterado en su actividad química y reacción biológica; igualmente el Lindano sufrió poca alteración. Los tratamientos con Alodán y Malatión mostraron una tendencia gradual a perder su actividad química y biológica durante el almacenaje.

Los bioanálisis con adultos *Drosophila melanogaster*, por exposición alimenticia directa con el método de interpolación o de curva estándar, demuestran concordancia con la efectividad del residuo después de 6 meses mencionada por Ramírez y Barnes (1958) para Chapingo, México, en lo que se refiere al DDT, Lindano y Malatión aplicados como protectores en maíz y trigo.

La lectura después del 6º mes para el Malatión y Lindano de 3.4 y 7.2, respectivamente, tienen semejanza con los resultados de Gunther y Lingren (1958), que por análisis químico obtuvieron, con tratamiento de 8 ppm de Malatión y 12 ppm de Lindano, en trigo, una lectura para el primero de 1.9 ppm y para el segundo 7.1 ppm, después de 165 días.

Esos datos, aun cuando muestran cierta concordancia con otros trabajos relacionados con el papel protector de esos insecticidas a las plagas de los granos almacenados, deben tomarse con reserva y se requiere de nuevas repeticiones del experimento para obtener datos que confirmen los resultados obtenidos en el presente trabajo. Esta aprensión redundará con la seguridad que demanda el conocimiento que indique el monto del residuo a través del tiempo para cada región, ya que cada vez es más intensivo el uso de insecticidas sin ningún control oficial, peligro a la salud humana.

CUADRO 1

Resumen de los porcentajes de mortalidad observada en los bioanálisis mensuales con los insecticidas utilizados en las dosis estándar, la muestra de concentración desconocida y su lectura respectiva. Exposición de *Drosophila melanogaster* por 24 horas, Chapingo, Edo. de México, 1961

DOSIS ppm	MORTALIDAD POR MES *					
	PRIMERO %	SEGUNDO %	TERCERO %	CUARTO %	QUINTO %	SEXTO %
<b>A L O D A N</b>						
30.0.....	0.69	0.67	1.92	4.0	0.7	5.96
47.5.....	15.67	14.47	14.77	28.0	7.48	19.87
75.5.....	46.38	28.0	41.33	46.58	37.34	32.0
119.5.....	68.45	70.66	64.87	65.75	69.10	60.0
189.5.....	72.42	86.75	74.49	79.33	79.85	77.03
300.0.....	92.57	92.86	93.75	95.20	93.05	90.20
Muestra.....	48.65	44.22	38.00	48.98	39.98	42.20
Testigo.....	1.33	0.0	1.66	2.	4.	0.0
<b>LECTURA DEL BIOANALISIS EN PPM</b>						
Total incluyendo el tóxico agregado.....	98.0	90.2	77.0	84.6	85.1	87.4
Sustracción del tóxico agregado = 70 ppm.....	28.0	20.2	7.0	14.6	15.1	17.4
Lectura final**.....	56.0	40.4	14.0	29.2	30.2	34.8
<b>D D T</b>						
180.0.....	5.63	4.8	6.4	3.29	11.4	5.33
253.7.....	29.0	14.38	20.65	8.6	22.0	18.12
357.4.....	44.8	21.92	29.79	22.22	39.33	34.01
503.7.....	61.9	46.33	45.02	41.49	51.95	54.55
709.9.....	72.95	61.64	63.27	57.05	68.66	67.78
1 000.0.....	81.6	78.91	75.84	75.16	82.78	80.26
Muestra.....	46.94	30.61	32.65	25.81	39.86	36.13
Testigo.....	1.39	2.00	1.33	0.00	0.00	0.00
<b>LECTURA DEL BIOANALISIS EN PPM</b>						
Total incluyendo el tóxico agregado.....	406.7	410.0	381.8	395.0	381.6	388.0
Sustracción del tóxico agregado = 350 ppm.....	56.7	60.0	31.8	45.0	31.6	38.0
Lectura final**.....	113.4	120.0	63.6	90.0	63.2	76.0
<b>L I N D A N O</b>						
25.0.....	8.34	7.09	6.08	15.76	4.81	9.52
30.7.....	16.83	9.61	15.87	36.73	16.21	19.44
37.74.....	38.63	27.75	44.00	47.63	36.23	41.59
46.4.....	52.70	44.91	53.93	61.12	54.35	56.37
56.9.....	71.11	60.40	70.75	74.65	64.63	68.70
70.0.....	79.16	72.48	81.33	78.76	81.76	85.72
Muestra.....	36.83	34.58	36.23	38.36	23.30	27.02
Testigo.....	0.67	1.33	1.33	2.00	1.33	2.00
<b>LECTURA DEL BIOANALISIS EN PPM</b>						
Total incluyendo el tóxico agregado.....	39.1	41.4	38.5	33.6	34.1	33.6
Sustracción del tóxico agregado = 30 ppm.....	9.1	11.4	8.5	3.6	4.1	3.6
Lectura final**.....	18.2	22.8	17.1	7.2	8.1	7.2

MALATION						
20.0.....	10.03	6.08	9.91	8.00	6.65	8.75
28.6.....	44.43	45.39	44.29	28.48	31.97	41.13
40.9.....	65.09	58.89	64.39	43.51	50.69	55.72
58.6.....	71.38	86.09	70.75	64.47	71.46	76.19
83.8.....	82.78	89.53	84.67	85.90	84.24	85.00
120.0.....	93.68	95.51	91.99	98.67	92.51	95.92
Muestra.....	46.31	45.40	37.94	25.32	25.34	29.29
Testigo.....	3.21	0.00	1.33	0.00	2.66	1.95
LECTURA DEL BIOANALISIS EN PPM						
Total incluyendo el tóxico agregado.....	34.7	33.8	29.6	28.7	27.1	26.7
Sustracción del tóxico agregado = 25 ppm.....	9.7	8.8	4.6	3.7	2.1	1.7
Lectura final**.....	19.4	17.6	9.2	7.4	4.2	5.4

\* Corregida según fórmula de Abbott.

\*\* Se obtuvo duplicando la cantidad anterior puesto que dicho resultado representa la mitad del total debido a que en la preparación de esta muestra se diluyó en un medio.

#### Referencias citadas

- BARTLETT, B. R. (1951.) *A new method for rearing Drosophila and a technique for testing insecticides with this insect.* Jour. Econ. Ent. 44 (4):621.
- CALDWELL, A. H. (1949.) *Mass rearing of Drosophila.* Jour. Econ. Ent. 42 (4):707.
- DEMEREK, M. (1950.) *Biology of Drosophila.* Carn. Inst. Wash. Wiley & Sons, Inc. N. Y.
- y B. P. KAUFMANN. (1945.) *Drosophila: Guide for introductory studies of genetics and cytology.* Carn. Inst. of Wash. Washington, D. C.
- DEWEY, J. E. (1958.) *Utility of bioassay in the determination of pesticide residues.* Jour. Agric. and Food Chem. 64 (4):274-281.
- FINNEY, D. J. (1952.) *Probit analysis.* Cambridge Univ. Press. London, England.
- FISHER, R. W., y B. N. SMALLMAN. (1955.) *Studies on a direct feeding method for use in bioassay of insecticide residues.* Canad. Ent. 86 (2):562-569. Ottawa, Canada.
- FLEMING, W. E., L. W. COLES y W. W. MAINES. (1951.) *Biological assay of residues of DDT and Chlordane in soil using Macrocentrus ancylicivorus as a test insect.* Jour. Econ. Ent. 44 (3):310-415.
- GEROLT, P. (1957.) *Method for breeding, handling and sexing adults of Drosophila melanogaster Meig. as a test insect for bioassay.* Bull. Ent. Res. 48:311-315. London, England.
- GUNTHER, F. A., L. D. LINDGREN y R. C. BLINN. (1958.) *Biological effectiveness and persistence of Malation and Lindane used for protection of stored wheat.* Jour. Econ. Ent. 51 (6):843-844.
- HARWOOD, R. F., y S. AREEKUL. (1957.) *A rearing trap for producing pomace flies for bioassay of insecticides.* Jour. Econ. Ent. 50 (4):512-513.
- RAMÍREZ, G. M. (1958.) *Materiales protectores del grano y su empleo en el combate de las plagas que lo atacan en el almacén.* Mem. Primer Cong. Nac. de Entomología y Fitopatología, E.N.A., Chapingo, Méx., 266-270.
- , D. BARNES y R. QUINTANA. (1958.) *Protección química de los granos almacenados.* Agr. Técn. en México. Dir. Gral. Agr., S.A.G., invierno 1957-1958. Núm. 5:13-15, 44.
- *Notas de la clase de Toxicología.* Cornell Univ.
- SHERMAN, M., y L. B. NORTON. (1948.) *The bioassay of gamma benzene hexachloride.* Jour. Econ. Ent. 41 (2):288-292.
- SUN, J. Y. TUNG., y Y. P. SUN. (1952.) *Microbioassay of insecticides in milk by a feeding method.* Jour. Econ. Ent. 46 (6):927-930.
- y J. Y. TUNG-SUN. (1952.) *Microbioassay of insecticides with special reference to aldrin and dieldrin.* Jour. Econ. Ent. 45 (1):26-37.
- SUN, Y. P., y J. E. PANKASKIE. (1954.) *Drosophila, a sensitive insect, for the microbioassay insecticide residues.* Jour. Econ. Ent. 47 (1):180-181.
- VIALE, E. (1954.) *Bioanálisis de residuos de insecticidas con moscas Drosophila de alas vestigiales.* Inst. Int. Cien. Agr., Turrialba, Costa Rica, 4 (2):61-65.
- WYLIE, W. D. (1956.) *Determination of insecticide residues in soil by using Drosophila.* Jour. Econ. Ent. 49 (5):638-640.