

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
inéditas



TESIS DOCTORAL

**Influencia de factores físico-químicos en la eclosión de  
huevos de "Ceratitis capitata" Wied (Diptera: Trypetidae)**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR  
PRESENTADA POR

**Mariano Muñiz Daza**

Madrid, 2015

T 595.77  
MUN  
inf



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE



5310045637

INFLUENCIA DE FACTORES FISICO-QUIMICOS EN LA ECLOSION DE  
HUEVOS DE Ceratitis capitata Wied. (Diptera:Trypetidae)

Tesis que presenta:

MARIANO MUÑIZ DAZA

para optar al grado de Doctor en Ciencias.

1.975

Ponente: Prof.Dr.Salvador V. PERIS TORRES

Director: Dr. José M<sup>o</sup> REY ARNAIZ



R. 28,232

FACULTAD DE BIOLOGIA. UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID.

Por su propia naturaleza,  
los caminos que conducen a la ver  
dad científica son tortuosos. El  
hombre que se dedica al quehacer  
científico se enaltece siempre -  
que duda cuando cree haberla con  
seguido, y se envilece si piensa  
poseerla sin posible error, ha--  
biendo utilizado vías fáciles ó  
de dudoso rigor.

## I N D I C E

<u>Capítulos</u>	<u>Pags.</u>
<u>INTRODUCCION</u> .....	1
1.- EL INSECTO.....	1
1,a.- Sistemática.....	1
1,b.- Bionomía.....	3
1,c.- Métodos de lucha.....	6
1,d.- El huevo.....	9
2.- CONSIDERACIONES FISICO-QUIMICAS TEORICAS.....	13
2,a.- El agua. Propiedades.....	13
2,b.- Fundamentos teóricos de la presión osmótica.....	16
2,c.- Disoluciones no ideales.....	22
2,d.- Conductividad y transporte iónico.....	24
3.- FENOMENOS FISICO-QUIMICOS EN EL HUEVO.....	30
3,a.- Permeabilidad y fenómenos osmóticos.....	30
3,b.- Aspectos respiratorios.....	34
3,c.- El p H.....	39
3,d.- Consideraciones sobre la influencia de factores físico-químicos.....	40
<u>MATERIAL Y METODOS</u> .....	42
1.- TECNICAS EXPERIMENTALES.....	42
2.- ANALISIS DE LOS RESULTADOS.....	56
<u>RESULTADOS Y DISCUSION</u> .....	61

	<u>Pags.</u>
<u>CONCLUSIONES</u> .....	191
<u>RESUMEN</u> .....	193
<u>BIBLIOGRAFIA</u> .....	200
<u>AGRADECIMIENTOS</u> .....	213

## I N T R O D U C C I O N

=====

### 1.- EL INSECTO

1,a .- Sistemática. La familia Trypetidae constituye un gran grupo conocido comúnmente bajo la denominación de "moscas de los frutos". Son de pequeño a medio tamaño con alas normalmente manchadas ó con bandas. Pueden reconocerse por la estructura del nervio subcostal que apicalmente se enorva casi en ángulo recto (Borrór, D.J. and Belong, D.M.; 1.955). Se caracterizan por ser florícolas ó herbícolas, muy comunes durante el verano. Muchas especies son atraídas por las sustancias azucaradas, por los ácidos orgánicos ó los materiales vegetales en estado de fermentación. (Séguy, E.; 1.951).

El género Ceratitis tiene una cabeza con un par de robustas setas ocelares. En el tórax presenta una seta humeral y otra posthumeral a cada lado. Las alas presentan el nervio R<sub>1</sub> cubierto por pequeños cilios en casi toda su longitud; la espina costal está marcada. Las patas son setulosas y con algunas setas más robustas, con el espolón apical de las tibias medias bastante desarrollado. (Ruiz Castro, A.; 1945).

En la especie Ceratitis capitata, el adulto es de unos 5 mm. de longitud de color amarillo y negro. La cabeza es bastante gruesa, casi totalmente amarilla. El espacio interocular vis-

to desde arriba es tan grande como cada uno de los ojos. Antenas con el segundo artejo oscurecido y el tercero más claro. Setas - tres veces más largas que éste último; ojos en el insecto vivo de color verde. Tórax y escudete torácico negro por encima, con manchas de color parduzco. Abdomen de color ocre. El margen posterior de los segmentos 1º y 3º presenta bandas transversales -- grises. Alas muy características: Están marcadas con una banda - transversal ocre con manchas grises estampadas; otra línea ancha del mismo color aparece en la extremidad del margen superior. Por último, numerosas manchas pequeñas negras están repartidas sobre el tercio basal. Los nervios subcostal y radial presentan en toda su longitud pequeños pelos dispuestos regularmente (Balachowsky, A. et Mesmil, L.; 1935).

El género Ceratitis fué creado por Mac Leay en 1.829 y la designación específica actual se debe a Wiedemann que la clasificó en el género Trypeta y especie capitata en 1.824. De Breu me, cuando la encuentra en España, la cita como Ceratitis hispánica. Finalmente Ihering, en 1.905 la asigna al género Ceratitis y especie capitata. El nombre vulgar más común es el de "mosca - de las frutas" y en España "gusano de las frutas" y otros. (Ruiz Castro, A.; 1.945).

En cuanto a su procedencia podemos decir que es Africa Occidental el lugar de origen, siendo España el país de Europa - donde primero se registró su presencia; posteriormente apareció en Calabria, sur de Francia, Australia, Egipto, Turquía, Palestina, etc. con motivo de la exportación de frutas a las que ataca, como naranjas. En 1.901 invadió el continente americano, en-

contrándose en Brasil y después en Argentina y, en 1.929, se describió su presencia en Florida en frutos de pomelo, en estado larvario. (Ruiz Castro, A.; 1945).

1, b.- Bionomía. En nuestro país produjo daños muy cuantiosos en 1.924, especialmente en la producción de uva de Almería por lo que sufrió un gran descenso su exportación a Norteamérica, siendo por entonces calificado como uno de los más nocivos. Debido a la exportación de frutas, en qué se encuentran las larvas, su profusión es enorme, quedando las pupas protegidas por los materiales de conservación y embalaje. Como España se extiende entre los 36° y 43° de latitud N., sólo debería alojarse en su mitad meridional, pero como las isothermas anuales peninsulares oscilan entre 19° y 13°, sólo hay una estrecha faja del litoral del Cántabro que, en principio, ofrece las condiciones térmicas fijadas para la evolución del insecto; así, se le ha encontrado en La Coruña y Santander, aunque no en Pamplona, Burgos, Zamora, Palencia y León puesto que sus bajas temperaturas invernales impedirían, casi con seguridad, que evolucione la generación de enlace, a pesar de que su media térmica anual sea mayor que la mínima establecida para su desarrollo. Sobre el periodo de actividad de la especie influye mucho la variedad de las plantas huéspedes y los periodos de maduración de sus frutos. Según Berlse, la hembra deposita sus huevos a los 10 ó 12 días de su emergencia, aunque hemos de tener presente que la temperatura y humedad son factores principales en este aspecto. Por ejemplo, en Honolulu, Severin - afirma que sólo invierte 8 días en adquirir la madurez sexual. - Back y Pemberton, realizando experimentos más precisos, conclu-

yen que, con media de unos 26°, la hembra está dispuesta para el acoplamiento en 4 ó 5 días y el macho a los 3. Nosotros hemos podido observar, con tres parejas aisladas, que bajo condiciones de 25°C y un 60 % de humedad relativa, se producen cópulas a las 48 horas y las hembras depositan huevos a las 72. Cuando la temperatura decrece, éstos periodos se alargan, hasta llegar al caso extremo de no verificarse la fecundación por debajo de 13°. Deposita los huevos, aplicando la punta del ovipositor al epicarpio, perforando la piel del fruto; se siente atraída por los zumos azucarados que surgen de las heridas practicadas por otros insectos y en ocasiones aprovecha los orificios ya hechos para depositarlos. El orificio que practica, tiene una profundidad variable según sea el fruto. En naranjas es menor de 3 mm. En cuanto al nº de huevos depositados en cada cámara, varía mucho; desde 2 ó 3 en naranjas hasta 926 encontrados en un mango. El nº de huevos puestos en total por una hembra oscila entre unos 300 y 400, aunque en Honolulu se dieron en una hembra más de 800, pero es preciso hacer constar que allí las condiciones climáticas son ideales para el desarrollo de este insecto, y en nuestros experimentos de laboratorio han llegado a obtenerse 2.700 huevos de una hembra en sus 34 días de vida.

También, según Ruiz Castro, el periodo de incubación varía considerablemente con la temperatura y clase de frutos. Si aquélla es de unos 25°C, el avivamiento tiene lugar a los dos días de la puesta, retrasándose hasta 27 si es de unos 10°C, según Vergin. Su gran difusión se debe a que la larva del insecto es enormemente polífaga, pudiendo adaptarse a los frutos más va-

riados. En España se ha encontrado en albaricoques, higos, chumbos, pimientos, naranjas, ciruelas, caquis, melocotones, peras, uvas, acerolas, chirimoyas, etc. siendo el melocotón su fruto predilecto. De una forma general se puede establecer el siguiente - proceso de invasión de las plantas huéspedes: Invierno: (Naranjas que terminan de recolectarse en Marzo ó Abril) → 1<sup>º</sup> de Mayo: Albaricoque → ciruelas, peras, higos → Finales de Julio → Gran invasión de higos y melocotones → Manzanas y menbrillos → 1<sup>º</sup> de Septiembre: Parrales (2 meses); (Ruiz Castro, A.; 1.45).

En cuanto a los daños ocasionados por el insecto, es - difícil dar cifras reales sobre su cuantía, pero por ejemplo, tomando como referencia la producción de frutales de pepita, hueso y cítricos, que aparece en el "Anuario Estadístico de la Producción Agrícola" que edita el M<sup>º</sup> de Agricultura, para el año 1972, supuso aproximadamente 700 millones de pts, representando un 2% del valor de la citada producción.

Además, no se trata solamente de los daños ocasionados directamente por él, sino que, una vez perforado el epicarpio de los frutos, deja camino abierto a un sinnúmero de infecciones -- producidas por hongos, que contribuyen a agravar más la situación.

En Canarias fué la causante de que desaparecieran prácticamente los melocotones del archipiélago (O'Shanahan Bravo de Laguna, J.; 1958).

En las regiones frías inverna como pupa ó adulto, mientras que en las regiones más tibias su actividad reproductora -- puede ser continua durante todo el año. Cuando las larvas se han

desarrollado suficientemente saltan de la fruta y forman un puparium en el suelo dentro de 2'5 a 5 cm. de la superficie ó debajo de otra protección, asegurándose así la continuidad del ciclo. - La fruta puede ser esterilizada por tratamiento con calor húmedo elevando la temperatura hasta 43°C durante 10 ó 14 horas; por exposición a 0'5°C durante 15 días ó por fumigación con dibromuro de etilino a razón de 210 a 260 gr. por cada 30 m<sup>3</sup> con exposición de 2 horas. En las áreas infestadas, la fruta caída ha de recolectarse diariamente y enterrar a varios metros de profundidad ó ser quemada ó cocida para destruir las larvas (Metcalf, C. L.; 1965).

1,c .- Métodos de lucha. En un principio, hacia los años 1.923 y 1.925 se ensayó el método de los mosqueros en la Estación Fitopatológica de Burjasot (Valencia), utilizando H<sub>2</sub>O y vinagre al 25%, Jabones amoniacales, concentrados de fruta, fosfato amónico, etc. Al aparecer los insecticidas orgánicos de síntesis D.D.T. y H.C.H. se utilizaron también hacia 1.946 y se continuaron hasta 1.954 con resultados muy positivos, mientras que los insecticidas preparados a base de H.C.H. no pueden utilizarse por el sabor a moho que proporcionan a los frutos tratados, - (Planes, G<sup>a</sup>, S.; 1960). En 1.954 se orientaron los métodos de lucha hacia el empleo de "pulverizaciones cebo" con azúcar ó proteínas hidrolizables, utilizando como productos insecticidas los compuestos orgánicos-fosforados de menor toxicidad (Planes G<sup>a</sup>, S. y Rivero, J.M. (del); 1962-63). También en otros países, y concretamente en Francia se realizaron ensayos de lucha química con insecticidas contra Ceratitidis capitata, sobre todo usando Diel-

drin que mostró una eficacia superior a los demás (Delmas, H.G.; 1953).

En España en la actualidad, se está insistiendo cada vez más en la utilización del método de lucha que coordina aspectos biológicos químicos ó genéticos en un plan conjunto, que constituye el "Control Integrado". Knippling, en 1.938, dió a conocer el método de control conocido como "suelta de machos estériles", para el cual se han realizado diversos ensayos por el I.N.I.A. - con el fin de aplicar ésta técnica a la "mosca de las frutas", - por irradiación de pupas que, siendo de 5 días ó más y con dosis de 8000 rads, dan hembras que no ponen huevos (esterilidad de 1º grado). (Arroyo, M. y Col.; 1965). Asimismo, durante 1.966, (Mellado, L. y Col, 1966-67); (Arroyo, M. y Col., 1967), se han venido realizando experimentos por el I.N.I.A. sobre mejora de técnica de cria, transporte y suelta masiva, y en 1968, (Mellado, L. y Col., 1968), se verificaron sueltas importantes que dieron resultados positivos a pesar de que la zona no estaba perfectamente aislada, permitiendo por tanto la invasión de insectos fértiles procedentes de otras zonas. En 1.970, Turica y Valsangiacomo, hicieron ensayos para determinar si la mosca del Mediterráneo -- reúne las condiciones necesarias para la aplicación de la técnica de machos estériles, demostrando que cuando se irradian las pupas de 8 días de edad mantenidas a 26°C se inducen mutaciones letales que dan lugar a espermatozoides estériles con lo cual, - los machos, al transmitir el esperma a las hembras naturales dan lugar a huevos no viables. La dosis más adecuada fué de 10.000 - rads. que produjo infertilidad total en las hembras tratadas y -

dejó a los machos en condiciones de transmitir la esterilidad. - Con 30.000 rads. se produjo la muerte de ambos sexos. (Turica A. y Valsangiacomo, F.J.; 1970).

En 1972 se realizaron una serie de trabajos y experimentos que trataron de demostrar la eficacia del método en zonas más amplias, así como establecer "cordones de seguridad" y reducir la aparición de "picaduras estériles", llegándose a la conclusión de que el método muestra una gran eficacia, siendo factible la protección de una determinada zona por sueltas periféricas de insectos estériles (Mellado, L.; 1972).

Uno de los métodos más prometedores en la actualidad para la lucha contra los insectos en general y Ceratitis en particular, es el llamado control genético, basado en el uso de insectos para su propio control mediante manipulación genética. Su mayor parte implica el cultivo masivo, obtención de mutantes adecuados y suelta de éstos individuos que, al copular con los de poblaciones naturales, dan lugar a una reducción en la fertilidad y, eventualmente, a la eliminación de la población. Por su propia naturaleza, los métodos de control genético son completamente específicos y no contaminantes (Davidson, G.; 1974).

Por todas éstas razones y habiendo visto que el insecto que nos ocupa, ocasiona daños irreparables en los frutos, es necesario tener un conocimiento básico del mismo. Nosotros hemos centrado los experimentos que más adelante exponemos, en la fase de huevo, por lo que dedicaremos un lugar preferente a su descripción, así como a varios aspectos físico-químicos, justificado, en parte, porque no descartamos la posibilidad de que el efecto

to tóxico de las sales utilizadas en nuestros experimentos, se deba, a que se produzca un desequilibrio respiratorio, iónico u osmótico en esta fase del desarrollo.

1,d .- El huevo.-

El término "Estado de huevo" no se refiere solamente al huevo recién puesto como tal, sino a todo el periodo de existencia embrionica. Se utiliza el término huevo como "sistema" cuando se refiere a la naturaleza dinámica del mismo y muchas veces a los cambios producidos por intervención experimental. El huevo típico de los insectos presenta una simetria bilateral y aparecen encerrados en una membrana vitelina interna y un corion resistente. Unos pequeños canales en esas membranas, llamados micropilos, permiten la entrada del esperma. Los elementos deutoplásmicos están dispersos en una red citoplásmica continua con una capa citoplásmica periférica, el periplasma (Counce, S.J.; 1973).

Son normalmente ovalados; la principal masa del huevo consta de yema, que contiene grasa, proteínas y otras sustancias nutritivas. El núcleo está situado en posición central y encajado en una pequeña isla citoplásmica. El periplasma se forma por condensación en la periferia de unas fibras finas del citoplasma de esa isla, que se ramifican a través de la yema, antes de su condensación (Bodenstein, D.; 1953).

Agrell, nos los describe así: "Son ricos en yema, que presenta una distribución apolar. Los que son pobres en yema se pueden considerar como adaptaciones secundarias para un abastecimiento nutricional externo durante la embriogénesis. El citoplasma

ma abarca las partículas de yema como un retículo que se extiende hasta la superficie del huevo, pudiendo rodearle (periplasma). El espesor periplásmico y la cantidad de citoplasma varía notablemente con los grupos de insectos, habiéndose comprobado que existe una estrecha correspondencia entre la cantidad de citoplasma y el nivel filogenético, siendo directamente proporcional a éste, de forma que los órdenes más avanzados como Díptera y Lepidóptera son los de mayor contenido citoplásmico".

Su sistema de simetría axial tiene la misma orientación que el organismo maternal que produce el huevo que también corresponde estrictamente a los planos de simetría del futuro embrión. Algunas veces la estructura interna del huevo refleja esta simetría. También la estructura interna del huevo puede mostrar una cierta estratificación. El periplasma se caracteriza por una marcada polaridad con relación a las células germinales plasmáticas que se producen en el polo posterior del huevo y aquí, el periplasma, tiene una estructura preformada, conteniendo gránulos basófilos de naturaleza variada, llamadas células germen determinantes, encontrándose además, una alta concentración de fosfatasa alcalina" (Agrell, I.; 1925).

Existen dos tipos de huevos respecto a la determinación de la formación de los órganos y su diferenciación: Los huevos indeterminados, en los que la cantidad de citoplasma es pequeña y la banda germen es corta. Las partes embriónicas destinadas para otros fines especiales pueden ser utilizadas por otras, bajo ciertas condiciones. El otro tipo es el de huevos determinados, en los que la cantidad de citoplasma es relativamente grande y la

banda germen es larga y delgada, mostrando visible diferencia---  
ción frecuentemente. Entre éstos dos tipos extremos hay muchos -  
intermedios. (O'Brien, R.D. and Wolfe, L.S.; 1964). En el caso -  
de Ceratitis sus características generales son las ya descritas  
para dípteros, aunque particularmente hemos de señalar que su co  
loración es al principio blanquecina con rápida tendencia a la -  
adquisición de un color amarillento; en la superficie presenta -  
una reticulación hexagonal, su vitelio es poco abundante. En ge-  
neral sus dimensiones son de 1 mm. aproximadamente de longitud y  
0'2 de anchura, aunque para los que proceden de hembras criadas  
en nuestro laboratorio, son de unos 0'75 mm. de largo y 0'16 de  
ancho.

Respecto a la naturaleza de la envoltura del huevo, po  
demos afirmar que los estudios orientados a determinarla, han si  
do muchos y se han realizado desde hace casi un siglo. Concreta-  
mente en 1884, Vergon y en 1885 Tichomiroff reconocieron que no  
era quitinosa. Este último la llamó corionina en Bombyx. En 1919,  
Pantel demostró que en Fásmidos, la envuelta del huevo está mu-  
chas veces impregnada con cal. Bluck, en 1914 demostró que la men  
brana protectora más importante del huevo puede ser una cutícu-  
la segregada por la serosa, en Dytiscus. En 1855, Leuckart obser-  
vó que en la mayoría de los insectos, el corion está perforado -  
por canales que transportan  $O_2$  a la estructura reticular respira-  
toria. (Wigglesworth, 1973).

El corion puede tener una estructura fina y flexible ó  
rígida, según los requerimientos respiratorios, de tal forma que  
los huevos puestos en lugares sin abrigo son muy resistentes a la

en soluciones frías.

(1) Se disuelve en 10 minutos una porción pequeña que lo hace lentamente (Janh, T.L.; 1935).

## 2.- CONSIDERACIONES FISICO-QUIMICAS TEORICAS.

### 2 a.- El agua. Propiedades.

Dado que todos los experimentos realizados en este trabajo se han llevado a cabo con soluciones acuosas, considero fundamental dedicar unas líneas a la importancia de las propiedades del agua en los seres vivos. De forma paralela a los otros organismos, la vida en los insectos, se desarrolla en un medio acuoso aunque en muchos casos, éste sea sólo interno. Este compuesto, el más frecuente de todos los que contienen oxígeno, es de primordial importancia para la integridad estructural de las moléculas biológicas y por consiguiente, para la de las células, tejidos y la totalidad del organismo. Su papel como disolvente de sustancias nutritivas es vital; sustancias que son incorporadas en solución al cuerpo del insecto. Sin embargo, cuando existen otras extrañas, éstas propiedades se ven alteradas. Como consecuencia de la presencia de electrolitos ó no electrolitos en el agua y existiendo una membrana semipermeable que separe dos "compartimientos" con un gradiente de concentración, tendrá lugar, - como veremos más adelante, el fenómeno llamado ósmosis del que - surge, como consecuencia el concepto de presión osmótica. En los organismos vivos este factor físico-químico es fundamental ya que siempre se encuentran en ellos ese tipo de membranas aunque sólo sea a nivel celular. Más adelante nos ocuparemos de su estudio -

con suficiente extensión, pero antes, y para una mejor comprensión de los desarrollos que después expondremos, es conveniente revisar algunos conceptos sobre las características del agua y soluciones acuosas, especialmente atendiendo a su estructura, ya que en ella está la explicación de tales propiedades.

Gran parte de las razones por las que pueden explicarse sus diferencias respecto a los hidruros de azufre, selenio y telurio está en la especial estructura de sus puentes de hidrógeno. Como es de sobra conocido, el átomo de hidrógeno consta de un protón y un electrón. En el oxígeno hay ocho, de los cuales, seis están en una capa externa. Al existir en el átomo de hidrógeno un lugar para un electrón más y en el oxígeno para dos, se origina una afinidad mutua entre los átomos de ambos elementos. De esta manera se explica la formación de dos enlaces O-H en la molécula de agua. (Moeller, T.; 1961).

Desde el estado sólido hasta  $4^{\circ}\text{C}$ , se pasa por diferentes estructuras. En la molécula de hielo existen dos átomos de Hidrógeno unidos a uno de O formando un ángulo de  $109^{\circ}$  siendo la distancia O-H de  $0,96 \text{ \AA}$ . Cada átomo de Oxígeno está rodeado tetraédricamente por otros cuatro mediante puentes de hidrógeno, y por distorsiones de esos enlaces tetraédricos se originan diferentes modificaciones sólidas. Entre un vértice tetraédrico de una molécula, cargado positivamente, y otro de una próxima con carga negativa, se establece una atracción electrostática, por lo que cada molécula puede formar 4 enlaces de hidrógeno, siendo la distancia media entre el centro de un átomo de oxígeno y el inmedia

to, de unos 2,76 Å y estando situado el átomo de Hidrógeno a 1,00 Å de uno de oxígeno y 1,76 Å del otro, (Pauling, 1960), resultando una estructura análoga a la de la Wurtzita. Al producirse aumento de la temperatura, tienen lugar agitaciones moleculares que extienden los enlaces de Hidrógeno dando lugar a la formación de asociaciones tales que una molécula de agua aparece unida a las otras por dos ó tres puentes de hidrógeno, llegándose al estado líquido en que desaparecen en parte tales estructuras. Cuando se sobrepasa el punto de fusión y sigue aumentando la temperatura, se tienden a formar grupos más compactos de máxima densidad a 4°C.

Frank y Wen (1957) también postularon que ésta formación de enlaces de Hidrógeno líquido se debe a la naturaleza covalente parcial del mismo.

Por otra parte, estos autores propusieron un modelo para la explicación de la interacción ión-agua, al considerar las soluciones de electrolitos, que ocupan un lugar destacado en nuestro trabajo. En él se considera que cada ión está rodeado por tres regiones; en la primera, las moléculas están orientadas en el campo eléctrico del ión, con pequeña energía cinética y casi inmóviles respecto a él. En la 2ª los ángulos de enlace aparecen un poco cerrados y en la 3ª, a pesar de que la estructura es normal, aparece polarizada por el campo iónico. Para disoluciones muy diluídas todo esto es correcto, pero cuando aumenta la concentración del soluto, existe una mayor tendencia a solapar a cada ión en las regiones circundantes. En una solución 1 molar de un electrolito XY existen pocos moles de algún ión. (Robinson and Stokes,; 1959).

Gracias al conocimiento de las formas de presentarse el agua en los compuestos inorgánicos (agua de constitución, - coordinada, ligada al anión, reticular, y en los coloides hidratados) se han podido explicar muchas de las propiedades de las sustancias que contienen agua en su estructura, así como la es- casa disolución de compuestos de compuestos no polares (Slatyer, 1967). En los polares se han encontrado mediante datos termodi- námicos que la estructura resultante del agua alrededor de las aberturas que se originan en la estructura normal, al romperse los enlaces cuando tales compuestos de naturaleza polar se in- troducen en las primeras capas de agua, es más cerrada que en - el agua normal (Kanzmann, 1959).

#### 2b .- Fundamentos teóricos de la presión osmótica.

Pasamos ahora a explicar algunas consideraciones ter- modinámicas de las que deriva el concepto de presión osmótica a sí como los de transporte y conductividad iónica, de gran inte- rés para comprender algunos fenómenos físico-químicos como per- meabilidad, procesos osmóticos, respiratorios, etc. que tienen lugar en el huevo de los insectos.

En general, cuando un sistema cambia de estado, puede ganar o perder energía en forma de calor y trabajo; si represen- tamos éste por  $+ W$  cuando se realiza por el sistema y por  $- W$  si se verifica contra él y, además, consideramos que el calor absorbido es  $+ Q$  y el desprendido  $- Q$ , en el cambio de un esta- do A a otro B, la energía del sistema se incrementa en  $E$ ,

$$\Delta E = Q - W$$

para una fase infinitesimal de este cambio es:

$$dE = dQ - dW \quad \text{ó lo que es igual}$$

$$dE = q - w$$

cuando la presión interior y exterior de un sistema es la misma, tiene lugar una pequeña expansión ó compresión de forma reversible; entonces el trabajo realizado es sólo trabajo mecánico contra la presión exterior:

$$dE = q - PdV$$

$$q = dE + PdV$$

como, por definición, en un proceso reversible es

$$ds = q/T \quad \text{tenemos que}$$

$dE = TdS - PdV$  (1), siendo E la energía interna, T la temperatura absoluta, S la entropía, P la presión y V el volumen. (Glasstone, S.; 1966).

Cuando se considera una propiedad extensiva, es decir, que depende de la cantidad de sustancia a que se refiere, se debe expresar su diferencial total considerando su variación respecto de las magnitudes que intervienen en el sistema. En nuestro caso, si varía el n° de moles, la diferencial total de la energía interna, que es una propiedad extensiva, se debe expresar como función de la entropía, S, del volumen, V, y del n° de moles de un componente dado,  $n_i$ . Entonces:

$$dE = \left(\frac{\partial E}{\partial S}\right)_{V, n_i} dS + \left(\frac{\partial E}{\partial V}\right)_{S, n_i} dV + \left(\frac{\partial E}{\partial n_i}\right)_{S, V, n_j} dn_i \quad (2)$$

siendo  $n_i$  el nº de moles de los componentes no incluidos. Al dividir ésta expresión por  $dS$ , a  $V$  y  $n_i$  constantes, y comparar con (1) queda que  $(\frac{\partial E}{\partial S})_{V, n_i} = T$  (3) ya que  $dV = 0$  y  $dn_i = 0$ .

Si dividimos (2) por  $dV$  a  $S$  y  $n_i$  constantes es  $(\frac{\partial E}{\partial V})_{S, n_i} = -P$  (4), que son los dos primeros coeficientes parciales. El 3º, o sea  $(\frac{\partial E}{\partial n_i})_{S, V, n_j} dn_i$  es, por definición, el potencial químico  $\mu_i$ . sustituyendo en (2):

$$dE = TdS - PdV + \mu_i dn_i \quad (5)$$

La energía libre de Gibbs se define así:

$$G = E + PV - TS \quad (6); \quad \text{diferenciando, es}$$

$$dG = dE + PdV + VdP - TdS - SdT \quad \text{y sustituyendo aquí}$$

la expresión del potencial químico, queda:

$$dG = TdS - PdV + \mu_i dn_i + PdV + VdP - TdS - SdT$$

$$\text{o sea: } dG = -SdT + VdP + \mu_i dn_i \quad (7)$$

y dividiendo por  $dn_i$  a  $T$ ,  $P$  y  $n_j$  ctes habremos definido una can tidad molar parcial que será la energía libre molar parcial de Gibbs. O sea:

$$\left(\frac{\partial G}{\partial n_i}\right)_{T, P, n_j} = \mu_i = \overline{G}_i \quad (8)$$

Entonces, el potencial químico,  $\mu_i$ , de una sustancia  $i$ , es la variación de la energía libre de Gibbs del sistema con  $n_i$  moles de los componentes, cuando la temperatura, presión y nº de moles de los demás componentes son constantes. Es la energía libre mo lar parcial de Gibbs,  $\overline{G}_i$  en que la presión, temperatura y nº de moles del componente  $i$  son siempre variables.

De igual forma que cuando existe un gradiente de ener

gía potencial, de temperatura ó de otra naturaleza, se determina la dirección del flujo acuoso, calorífico, etc., la diferencia en el potencial químico de una sustancia en dos fases, determina la dirección en que la sustancia se difunde.

Si tomamos  $T$ ,  $P$  y  $n_i$  como variables independientes, podremos escribir que:

$$d\mu_i = \left(\frac{\partial \mu_i}{\partial T}\right)_{P, n_i} dT + \left(\frac{\partial \mu_i}{\partial P}\right)_{T, n_i} dP + \left(\frac{\partial \mu_i}{\partial n_i}\right)_{T, P, n_j} dn_i \quad (9)$$

y dividiendo (7) por  $dT$  a  $P$ ,  $n_i$  constantes es  $\left(\frac{\partial G}{\partial T}\right)_{P, n_i} = -S$  (10)

entonces  $\left(\frac{\partial \bar{G}_i}{\partial T}\right)_{P, n_i} = -\bar{S}_i = \left(\frac{\partial \mu_i}{\partial T}\right)_{P, n_i}$  (11), donde  $\bar{S}_i$  es la entropía molar parcial.

De igual forma, si dividimos (6) por  $dP$ , a  $T$  y  $n_i$  constantes, es  $\left(\frac{\partial \bar{G}_i}{\partial P}\right)_{T, n_i} = \bar{V}_i = \left(\frac{\partial \mu_i}{\partial P}\right)_{T, n_i}$  (12)

siendo  $V_i$  el volumen molar parcial del componente  $i$ ésimo. Sustituyendo las ecuaciones (11) y (12) en la (9), junto con

$N_i = \frac{n_i}{n_i + \sum n_j}$ , en que  $N_i$  es la fracción molar del componente

$i$ ésimo, es  $d\mu_i = -\bar{S}_i dT + \bar{V}_i dP + \sum \left(\frac{\partial \mu_i}{\partial N_i}\right)_{T, P, n_j} dN_i$  (13).

Para que tenga lugar el equilibrio de un componente  $i$ ésimo en las fases líquido y vapor, a una presión y temperatura dadas, la condición termodinámica es que el potencial químico del componente sea el mismo en ambas fases, o sea :

$$\mu_i (\text{liq.}) = \mu_i (\text{vapor}) \quad (14)$$

como para un gas ideal es  $\bar{V}_i = \frac{RT}{p_i}$  (15), siendo  $p_i$  la expresión presión parcial del componente considerado, sustituyendo en (12)

es  $\left(\frac{\partial \mu_i}{\partial p_i}\right)_{T, n_i} = \frac{RT}{p_i}$  ;  $\int_{\mu_i^\circ}^{\mu_i} d\mu_i = \int_{p_i^\circ}^{p_i} \frac{RT}{p_i} dp_i$  (16); entonces

$\mu_i - \mu_i^\circ = RT \ln \frac{p_i}{p_i^\circ}$  (17), siendo  $\mu_i^\circ$  y  $p_i^\circ$  el potencial químico y la presión parcial del gas del componente iésimo en la fase pura, a la presión y temperatura de referencia. Vemos, pues, que el potencial químico de un componente se puede expresar en términos de su presión parcial en estado gaseoso (Slatyer, 1967).

Cuando se trata de soluciones ideales, es correcto aplicar la ley de Raoult  $p_i = N_i p_i^\circ$ , siendo  $N_i$  la fracción molar del componente iésimo. Sustituyendo el valor de  $N_i$  en la (17) queda

$$\mu_i - \mu_i^\circ = RT \ln N_i \quad (18)$$

La presión osmótica de una solución acuosa se puede obtener utilizando el potencial químico. Cuando el sistema está en equilibrio, el potencial químico del agua pura en el compartimiento I,  $(\mu_w^I)$ , es igual al del agua en la solución del compartimiento II,  $(\mu_w^II)$ , puesto que la diferencia de presión aplicada eleva el potencial químico del agua en el segundo compartimiento hasta el valor que presenta en el disolvente puro:

De (9), y considerando que el proceso es isotérmico, obtenemos:  $d\mu_w = \left(\frac{\partial \mu_w}{\partial p}\right)_{T, N_s} dp + \left(\frac{\partial \mu_w}{\partial N_s}\right)_{T, p} dN_s$  (20)

Como

$\mu_w - \mu_w^\circ = RT \ln N_w$ , derivando respecto a  $N_s$  queda -

$$\left(\frac{\partial \mu_w}{\partial N_s}\right)_{T, p} = - \frac{RT}{1 - N_s} \quad (21), \quad \text{ya que } N_w = 1 - N_s$$

Sustituyendo (13) y (21) en la (20) queda :

$$d\mu_w = \bar{V}_w dP - \frac{RTdN_s}{1-N_s} \quad (22) ; \text{ como en el osmómetro,}$$

la presión varía hasta que  $d_w = 0$ , es  $\bar{V}_w dP = \frac{RTdN_s}{1-N_s} = \frac{-RTd\ln N_w}{N_w}$  (23)

ya que  $N_w = (1-N_s)$ ;  $-\ln(1-N_s)$  puede representarse por una serie potencial en  $N_s$ ; así :  $-\ln(1-N_s) = N_s + \frac{1}{2} N_s^2 + \frac{1}{3} N_s^3 + \dots$

Para disoluciones muy diluídas pueden considerarse nulos los términos  $\frac{1}{2} N_s^2$ ,  $\frac{1}{3} N_s^3$ , etc. y como  $1 - N_s = N_w$ , queda  $-\ln N_w = N_s$

Integrando entre  $p^\circ$  y  $p^{eq.}$  (presión atmosférica y en el osmómetro) para el primer miembro y entre

$$N_w = 1, (\ln N_w = 0), \text{ y } \ln N_w, \quad \text{queda}$$

$$\int_{p^\circ}^{p^{eq.}} \frac{\bar{V}_w}{V_w} dp = -RT \int_0^{\ln N_w} d\ln N_w \quad (24), \text{ por lo que:}$$

$$\bar{V}_w (p^{eq.} - p^\circ) = -RT \ln N_w \quad (25).$$

A la diferencia  $p^{eq.} - p^\circ$  se llama presión osmótica,  $\Pi$ , definida

$$\text{así: } \Pi = \frac{-RT}{\bar{V}_w} \ln N_w$$

si consideramos que  $-\ln N_w \approx N_s$  y  $\frac{N_s}{V_w} = C_s$  es  $\Pi = RTC_s$

siendo  $C_s$  la concentración del soluto en moles/litro.

Como vemos, la presión osmótica no se trata de un concepto absoluto sino íntimamente relacionado con las magnitudes termodinámicas consideradas, tratándose en definitiva de la variación que experimenta el potencial químico ó Energía libre molar parcial, cuando la disolución y el disolvente están separados por una membrana semipermeable.

### 2c .- Disoluciones no ideales.

Cuando las soluciones no son ideales, los resultados no concuerdan y hay que introducir factores que corrijan las desviaciones de la idealidad.

La disociación electrolítica es un ejemplo en el que, como sabemos, se forman una serie de iones múltiplo del nº de moléculas y, por lo tanto, el valor de las propiedades que dependen fundamentalmente del nº de moléculas y no de su naturaleza, (propiedades coligativas), ha de ser múltiplo del valor que se calcula. Cuando los electrolitos son fuertes, Bjerrum definió el coeficiente osmótico,  $g$ , como la relación entre el valor real,  $\delta$ , y el ideal,  $\delta_i$  de cada propiedad. Esa relación nos da una idea del comportamiento ideal de los iones en la solución y tanto más ideal cuanto más se acerque a la unidad ese cociente. Por otro lado, la relación  $\frac{\delta}{\delta_m} = i$ , es el coeficiente de Van't Hoff, siendo  $\delta_m$  el valor calculado. Si la molécula que se considera se disocia en  $\nu$  iones es  $\delta_i = \nu \cdot \delta_m$  y entonces  $g = \frac{i}{\nu}$ . Cuando el electrolito en cuestión es débil, siendo  $\alpha$  su grado de disociación, y se forman  $\nu$  iones por cada molécula, tendremos que 1 mol de electrolito producirá  $\nu\alpha$  moles de iones, quedando sin ionizar  $(1 - \alpha)$  moles. Entonces  $[1 + (\nu - 1)\alpha]$  será el nº de partículas y el valor de  $i$  será  $1 + (\nu - 1)\alpha$  y  $\alpha = \frac{i-1}{\nu-1}$ , que también se utiliza en electrolitos fuertes para conseguir las desviaciones en su comportamiento respecto a la idealidad, siendo:

$$\Pi = i R T C_s$$

Análogamente, en los estudios sobre este tipo de diso

luciones no ideales, es necesario introducir el concepto de actividad, ya que cuando se trata de electrolitos en soluciones concentradas los resultados no responden al comportamiento de tales soluciones según su concentración, puesto que se originan interacciones iónicas dando lugar a la formación de iones asociados en pares  $+ -$  si la concentración no es muy alta; si ésta aumenta, empiezan a formarse iones triples  $+ - +$  y  $- + -$ , etc.

La actividad se expresa por el producto de la concentración por un factor,  $\gamma$ , llamado factor de actividad. Lo que se utiliza, en realidad, es la actividad media de los iones. -- Cuando una molécula de un electrolito del tipo  $A_x B_y$  se disocia en iones, de los cuales,  $\nu_+$  son cationes y  $\nu_-$  aniones, el coeficiente de actividad media  $\gamma_{\pm}$  será  $\gamma_{\pm} = \sqrt{\gamma_+^{\nu_+} \gamma_-^{\nu_-}}$  o sea:

$$\log \gamma_{\pm} = \frac{\nu_+ \log \gamma_+ + \nu_- \log \gamma_-}{\nu_+ + \nu_-}$$

Si las valencias de los iones son  $Z_+$  y  $Z_-$  y teniendo en cuenta que  $\nu_+ Z_- = \nu_- Z_+$  es  $\log \gamma_{\pm} = \frac{Z_- \log \gamma_+ + Z_+ \log \gamma_-}{Z_+ + Z_-}$

y dado que para un ión individual es  $-\log \gamma_i = A Z_i^2 \sqrt{u}$ , donde  $A$  es del orden de 0'5 y  $u$  es la fuerza iónica definida por  $u = \frac{1}{2} \sum C_i Z_i^2$ , siendo  $C_i$  la concentración iónica y  $Z_i$  la carga eléctrica del ión, queda que  $-\log \gamma_{\pm} = 0'5 Z_+ Z_- \sqrt{u}$ , expresión que requiere ser modificada para disoluciones concentradas introduciendo factores de corrección, llegándose a la denominada ecuación de Debye-Hückel:

$$-\log \gamma_{\pm} = \frac{A Z_+ Z_- \sqrt{u}}{1 + aB \sqrt{u}} - C u$$

siendo  $a$  la distancia media de aproximación de dos iones de signo opuesto;  $B$  está formada por dos constantes universales, la constante dieléctrica y la temperatura absoluta;  $C_u$ , la corrección debida al efecto salificante originado por la atracción -- entre los iones y las moléculas dipolares del disolvente, que -- ocasionan un desplazamiento iónico (Glasstone, 1966).

Para la expresión de la presión osmótica, introduciendo la actividad, toma la forma  $\Pi = i R T a$  siendo  $a$  la actividad molar, obtenida como producto de la concentración por su -- factor de actividad.

#### 2d .- Conductividad y transporte iónico.

De fundamental interés para el conocimiento de los -- procesos que tienen lugar cuando a un ser vivo se le somete a -- tratamiento en contacto con soluciones, es la permeabilidad celular. En las membranas celulares existe un potencial eléctrico creado por existencia de un gradiente de concentración iónica a uno y otro lado de la misma. Pues bien, al poner en contacto dos soluciones en las que exista tal gradiente de concentración se produce el fenómeno de la difusión, ocurriendo hechos concretos que incidirán de forma distinta según sea la naturaleza de la -- molécula que trate de pasar la barrera constitutiva de las membranas animales. Por ejemplo, la membrana plasmática es lipoproteica, con una capa lipídica en el medio y dos proteicas en los extremos. En el caso de moléculas hidrófilas, atravesarán fácilmente la zona proteica, encontrando dificultades al encontrarse con los lípidos apolares. Sin embargo ocurrirá al revés cuando la molécula sea lipófila.

Pero no solamente es la difusión el mecanismo que determina la permeabilidad celular. Es digno de considerar el transporte iónico para lo que vamos a detenernos en el estudio de la migración de iones en un campo eléctrico.

Sabemos que la corriente eléctrica es transportada por electrones ó iones. El movimiento de partículas cargadas, (electrones), ó iones tiene lugar bajo la influencia de una diferencia de potencial llamada normalmente fuerza electromotriz (E); la intensidad de la corriente, según la ley de Ohm, toma el valor

$$I = \frac{E}{R_i + R_e} \quad \text{siendo } R_i \text{ y } R_e \text{ las resistencias interna y externa, respectivamente.}$$

Cuando se aplica un campo eléctrico a una solución electrolítica, los iones experimentan una fuerza dado por  $f = Z_i \cdot e \cdot E$ , donde  $Z_i$  es la valencia del ión  $i$ , y  $e$  su carga. La aplicación de la constante de campo  $E$ , acelera los iones hacia el ánodo ó el cátodo, dependiendo del signo del ión. Las moléculas del solvente que los rodean ejercen una fuerza friccional  $f_r$  que determina la Velocidad final  $V_i$  de forma que

$$f = f_r \cdot V_i \quad ; \quad V_i = (Z_i \cdot e \cdot E) / 300 f_r$$

estando expresada  $e$  en unidades electrostáticas y  $E$  en voltios/cm.

Para el caso en que  $E = 1$  v/cm., la movilidad absoluta,  $m_i$ , característica del ión, se obtiene así

$$m_i = V_i / E = (Z_i \cdot e \cdot E) / 300 f_r \quad (\text{cm./seg.}) / (\text{v/cm.}).$$

El parámetro medible directamente de una solución electrolítica es su conductividad equivalente  $\lambda$ , pudiendo deducirse así la relación entre  $m_i$  y  $\lambda$ . La resistencia  $R$ , de un conductor unifor

forme es directamente proporcional a su longitud  $l$ , e inversamente a su sección  $A$ ; o sea,  $R = \rho \frac{l}{A}$  siendo  $\rho$  la resistencia específica y su recíproco la conductividad específica  $K$ , o sea,  $R = \frac{l}{K} \left( \frac{l}{A} \right)$ . En soluciones de electrolitos, la concentración ejerce una gran influencia en la conductividad, que es la inversa de la resistencia, pero como  $\frac{l}{R} = K \frac{A}{l}$ , si un equivalente-gramo de un electrolito disuelto en  $V$  ml. de solución, está encerrado entre dos electrodos paralelos, en un área de  $A$  cm<sup>2</sup> y  $l$  cm. de separación, la conductividad de esta solución a esa concentración se llama conductividad equivalente,  $\lambda$ , siendo  $\lambda = KV$ . Si la concentración de la solución es  $C$  (equiv-gr./l) es  $\lambda = \frac{1000K}{C}$ . Aunque la corriente resulta del movimiento de iones en direcciones opuestas con cargas opuestas, la conductividad equivalente puede considerarse como la suma de las conductividades iónicas. Se supone que la solución es diluida y que  $\lambda = \lambda_{\infty}$ , la conductividad a dilución infinita. En este caso  $\frac{1000K}{C} = \lambda_+ + \lambda_-$  y  $K = C (\lambda_+ + \lambda_-)/1000$ , que es la regla conocida como ley de migración independiente. (Glasstone, S.; 1966).

Por la ley de Ohm, la intensidad es el producto de la f.e.m. por la conductividad. En 1 seg. pasan  $K$  cul.(C), a través de un cubo de 1cm. de arista. Si  $u_+$  y  $u_-$  son las movilidades absolutas de cationes y aniones, pueden moverse un total de  $(u_+ + u_-) C/1000$  equiv.-gr. de cationes y aniones en 1 seg. - Como 1 equiv.-gra. transporta unos 96.500 cul. de corriente, o sea, 1 Faraday, la cantidad total de electricidad transportada en 1 seg. es  $F (u_+ + u_-) C/1000$  Cul. Entonces:

$$F (u_+ + u_-) C/1000 = C (\lambda_+ + \lambda_-)/1000 \text{ y } F (u_+ + u_-) = \lambda_+ + \lambda_-;$$

$$u_+ = \frac{\lambda_+}{F} \quad \text{y} \quad u_- = \frac{\lambda_-}{F}$$

Bajo la influencia de un potencial, la corriente eléctrica es transportada a través de una solución electrolítica por el movimiento de los iones de signo opuesto, en direcciones opuestas. Si se supone que un tubo de solución electrolítica de concentración  $C$  moles/l y de área  $A$   $\text{cm}^2$  está sometido a un gradiente de potencial de  $1\text{V}/\text{cm}$ ., el nº de iones positivos que se mueven en 1 seg. a través de un plano de referencia es:

$\nu_+ \cdot C \cdot N \cdot A \cdot u_+ / 1000$ , donde  $N$  es el nº de Avogadro;  $\nu_+$  es el nº de iones-gra. de cationes de 1 mol-gr. de electrolito, y la corriente:  $\nu_+ \cdot C \cdot N \cdot A \cdot u_+ \cdot Z_+ \cdot e / 1000$ . La debida al movimiento en la dirección opuesta es  $\nu_- \cdot C \cdot N \cdot A \cdot u_- \cdot Z_- \cdot e / 1000$ , siendo la total

$C_t = (NAeC/1000) (\nu_+ Z_+ u_+ + \nu_- Z_- u_-)$  y la fracción de corriente transportada por el catión viene dada por

$$t_+ = \frac{\nu_+ Z_+ u_+}{(\nu_+ Z_+ u_+) + (\nu_- Z_- u_-)}$$

Como la condición de electroneutralidad es  $\nu_+ Z_+ = \nu_- Z_-$ , queda

que

$$t_+ = \frac{u_+}{u_+ + u_-} = \frac{\lambda_+}{\lambda_+ + \lambda_-} \quad \text{y} \quad t_- = \frac{u_-}{u_+ + u_-} = \frac{\lambda_-}{\lambda_+ + \lambda_-};$$

entonces  $t_+ + t_- = 1$ . En el caso de mezcla de electrolitos es

$$t_i = Z_i C_i u_i / \sum_j Z_j C_j u_j \quad \text{y} \quad \sum_j t_j = 1$$

(Lakshminarayanaiah, 1969).

Las conductividades de los iones metálicos aumentan al crecer el peso atómico, contrariamente a lo que lógicamente de-

bería de ocurrir. Por ejemplo, el ión litio debería tener la velocidad mayor; sin embargo tiene la menor. En 1894 Bredig sugirió que los iones en solución se unen a un n° mayor de moléculas de agua, emigrando estos iones hidratados como un todo bajo la influencia de la f.e.m. aplicada. Si el ión litio está más hidratado que el sodio, la magnitud del complejo ión-hidratado puede ir en descenso del litio al cesio. Debido al gran poder polarizante de un ión pequeño, es probable que la atracción entre el ión y los dipolos moleculares del agua disminuirá uniformemente al aumentar el peso atómico. Si los iones transportan moléculas de agua con ellos durante su emigración, es evidente que las medidas de los n° de transporte vendrán afectados puesto que la concentración de la disolución resultará alterada si los dos iones se hidratan en grado diferente (Glasstone, 1966).

Por estas razones es de gran interés en todos los trabajos con disoluciones de electrolitos conocer los radios iónicos de los elementos que constituyen la especie química en cada caso. Cuando se trata de iones esféricos, existen numerosísimas referencias bibliográficas en que se encuentran los valores empíricos y teóricos deducidos por métodos diferentes. En nuestro caso concreto nos interesan los de  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$  y  $\text{Cl}^-$  para los que  $r$ , en Å, toma los valores 0,68, 0,98, 1,33, 0,94 y 1,81, respectivamente (Harvey, K. and Porter, G.B.; 1963). Sin embargo es imposible asignar radio único a iones no esféricos. Algunos de tales iones, como  $\text{Ac}^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{CO}_3^{=}$ , y  $\text{SO}_4^{=}$  en nuestro caso, son de gran interés y sería muy útil tener sus radios

iónicos. Yatsimirskii, en 1947 y 1948 mostró que es posible determinar indirectamente sus valores aparentes a partir de la energía de formación reticular de los compuestos que los contienen. A partir del ciclo de Born-Haber se puede usar la entalpía de formación junto con otros términos apropiados y proporcionar una energía reticular experimental. Es, pues, posible encontrar que el valor del radio iónico correspondiente sea consistente con su energía reticular. Tales valores son llamados radios termo-químicos. Para los iones mencionados son, en Å:  $\overset{\ominus}{\text{Ac}}^-$  (1,59),  $\text{CO}_3^{\ominus}$  (1,85),  $\text{NO}_3^-$  (1,89) y  $\text{SO}_4^{\ominus}$  (2,30) (Huheey, J.E.; 1972).

También es interesante conocer el potencial iónico, - definido como el cociente entre la carga y el radio; en las especies iónicas que nos interesan, los valores calculados sobre la base de los radios iónicos anteriores son:  $\text{Li}^+$  (1,47); -----  $\text{Na}^+$  (1,02);  $\text{K}^+$  (0,75);  $\text{Ca}^{++}$  (2,13);  $\text{Cl}^-$  (0,55);  $\text{Ac}^-$  (0,63); ---  $\text{CO}_3^{\ominus}$  (1,08);  $\text{NO}_3^-$  (0,53);  $\text{SO}_4^{\ominus}$  (0,87).

La dirección en que se mueve un ión pasivamente está determinada por fuerza originadas por la existencia de gradientes de concentración, como ya se ha explicado, y por potenciales eléctricos cuando no hay interacción con otras sustancias - que pasen la membrana al mismo tiempo. Si hay interacción, intervienen las fuerzas de fricción (efecto de arrastre). Si no existe tal efecto, la fuerza que impulsa al movimiento pasivo de un ión es su gradiente de potencial electroquímico, que viene - dado por la relación:  $\Delta\mu_e = RT \ln \frac{a_1}{a_2} + Z F E$ , donde  $a_1$  y  $a_2$  - son las actividades químicas del ión en las dos soluciones; Z es

te de presión osmótica a través de la membrana. Si existe movimiento del soluto en la misma dirección que el del agua, el efecto de arrastre del soluto puede proporcionar una fuerza adicional, cuya importancia fué demostrada por Durbin, Meschia y Setnikar en membranas de celulosa el 1º y de colodión los dos últimos. Diamond, (1962), demostró en un estudio sobre el movimiento del agua a través de membranas vivas en cucarachas, que se produce tal movimiento en contra de un gradiente osmótico, como consecuencia de la actividad de transporte de  $\text{ClNa}$ , poniendo de manifiesto que el mecanismo de éste transporte es semejante al arrastre de soluto debido a la difusión de éste; fenómeno llamado codifusión (Shaw and Stobbart, 1963).

Se ha sugerido que los iones pueden intercambiarse de una parte a otra de la membrana a través de poros cargados eléctricamente. Así, existirían en la membrana poros sin carga y otros con carga eléctrica positiva ó negativa. Tales poros estarían localizados fundamentalmente en las moléculas proteicas y, en algunos lípidos hidrófilos que pueden unir iones  $\text{Na}^+$  y moléculas polares y su signo depende de la proporción existente entre el nº de cargas positivas (grupos aminos, etc.) y de cargas negativas (grupos carboxílicos).

Los radios de los iones hidratados son, para el sodio, potasio y cloro, de 2,56, 1,98, y 1,93 Å respectivamente, y el radio sin hidratación de una molécula con una cadena de 3 carbonos es de unos 2,6 Å ; el radio del poro en membranas biológicas varía de 3,5 a 8 Å. La célula utiliza una superficie muy pe

dos tenían el grave inconveniente de no dar resultados muy exactos debido a la imperfección de las técnicas utilizadas (Vialli, 1925) Wigglesworth, 1938; Ramsay, 1949). Más adelante continuaron estudiándose los mecanismos de regulación de los insectos a medios cuya concentración salina es considerable; como ejemplo podemos citar uno en el que se investigó la adaptación de larvas de Ephydra cirenea, a soluciones salinas altamente concentradas. Estos insectos son capaces de mantener una presión interna de 20,4 atm. a temperaturas de 3°C. Si ésta es mayor, (del orden de 21°C), la variabilidad es mayor. Los resultados muestran que tal adaptación es debida sólo parcialmente a la impermeabilidad cuticular y probablemente a una regulación activa. (Nemenz, 1960).

También tienen interés, bajo este punto de vista, los estudios encaminados a proporcionar datos sobre el contenido iónico de la hemolinfa. En Díptera, la concentración de  $\text{Na}^+$  varía desde 151 meq/l. en Tabanidae a 39,6 en Dictenidia bimaculata. Para  $\text{K}^+$ , de 8,2 en Tipula paludosa a 2,1 en Chironomus; para  $\text{Ca}^{+2}$ , de 13,8 en Dictenidia a 10,5 en Chironomus; en  $\text{Mg}^{+2}$  de 16,0 en Tipula a 14,5 en Dictenidia, siendo, en resumen, el catión fundamental el  $\text{Na}^+$ .

La participación de los diferentes iones inorgánicos en el equilibrio de cationes es en Diptera de 14,8 meq/l. en  $\text{Cl}^-$ ; 4 en  $\text{PO}_4\text{H}_2^-$  y 14,5 en  $\text{CO}_3\text{H}^-$ . En general, la suma de los aniones  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{PO}_4\text{H}_2^-$  y  $\text{CO}_3\text{H}^-$  ejerce un equilibrio con la suma de cationes en la hemolinfa de los exopterigotos; en el caso de los en-

dopterigotos existe un déficit en el balance anión-cación, lo que revela el gran papel jugado por las moléculas orgánicas en la neutralización de los cationes. (Florkin y Jenniaux, 1964).

### 3b .- Aspectos respiratorios.

La respiración incluye la transferencia física de gases respiratorios entre la atmósfera y los tejidos, así como los procesos químicos de oxidación metabólica (Buck, 1962). Según Edwards (1953) la penetración de gas a través del huevo depende, fundamentalmente, de las diferencias entre las tensiones internas y externas de  $O_2$  y  $CO_2$ , de la permeabilidad del corion protector y del número y naturaleza de los poros. La intensidad de la difusión en el interior de la capa envolvente depende del intervalo de la misma, diferencia de tensión entre el espacio gaseoso y los tejidos embriónicos y del gradiente metabólico embrionario. La razón de difusión final es función de la variación de la superficie embriónica y de su tamaño, de su heterogeneidad y de la actividad de los tejidos.

Sin embargo, no todas estas condiciones pueden medirse ó calcularse. Si se supone, continúa Edwards, una presión parcial de oxígeno cero, en el centro de un organismo de superficie homogénea y forma esférica respirando en una razón constante, es posible calcular el tamaño límite de un organismo respirando por difusión, así:

$$C_0 = \frac{Ar^2}{6D}, \text{ siendo } C_0 \text{ la concentración de gas en la}$$

superficie (atm.) A, el consumo de  $O_2$  (cc/gr/min.), r= radio de

la esfera (cm.) y D el coeficiente de difusión (atm./cm./cm.<sup>2</sup>); a 2°C, D tuvo los valores siguientes: Para H<sub>2</sub>O, 0,000034; para músculo, 0,000014 y para quitina 0,000013. Utilizando éstas sustancias se encontró que el radio de un organismo esférico de alto metabolismo respiratorio por simple difusión no puede exceder de 1 mm.

Las capas de cera de la envoltura del huevo son relativamente impermeables al agua y gases. La primera evidencia directa de que el intercambio gaseoso se realiza fundamentalmente vía micropilo se ha demostrado en Rhodnius prolixus (Tuft, 1950). En 1947, Beament puso de manifiesto que la envoltura del huevo de Rhodnius está compuesta de varias capas, de las cuales, la más interna es cerosa e imparte impermeabilidad al corion. En el extremo del casquete del huevo hay dos grupos de orificios; unos son los verdaderos canales micropilares (alrededor de 13), que están abiertos al exterior, pero no penetran en la capa de cera más interna, y los canales pseudomicropilares que están cerrados en ambos extremos excepto por diminutos poros que penetran en la envoltura externa. En el extremo del casquete del huevo, particularmente en el borde donde se localizan los orificios, se reduce el consumo de O<sub>2</sub> del huevo hasta un valor constante de -- 0,02 mm<sup>3</sup> O<sub>2</sub>/huevo/h.

Este volumen pasa a través del cuerpo del corion y el resto pasa a través del casquete. El cálculo de la penetración de oxígeno en los tejidos durante la respiración, por la expresión:

$$b' = \sqrt{\frac{2KY_o}{a}}$$

Los huevos de Díptera presentan unos tentáculos bien dotados para atender a las demandas del medio ambiente ya sea seco ó con exceso de agua. Pueden obtener aire del agua actuando como una agalla ó un Plastron, pero en aire seco, la pérdida de humedad se puede limitar hacia la pequeña sección transversal en la base del tentáculo. (Hinton, 1961).

Según Hinton, el término plastron se ha reservado para describir una película gaseosa de volumen constante y una extensa interfase agua-aire. Tales películas se encuentran fijas gracias a un sistema de estructuras que resisten la entrada de agua bajo presión. En aguas bien aireadas, un plastron capacita al huevo del insecto para quedar indefinidamente sumergido, mientras que obtiene el oxígeno requerido para la respiración, del medio acuoso ambiente. La resistencia plastrónica a las presiones hidrostáticas varía directamente con la tensión superficial del líquido. Hinton, en 1960, sugirió que la probable explicación de que los plastrones de muchos huevos terrestres son más resistentes a los excesos de presión en agua clara que los huevos de algunos insectos totalmente acuáticos que viven en corrientes fluviales, parece encontrarse en el hecho de que los huevos depositados en materia orgánica en descomposición, están expuestos con mucha frecuencia a concentraciones de sustancias activas en superficie que raramente ocurre en los ríos (Hinton, 1960; Tuft, 1950, a; Tuft, 1950, b).

Veamos algunos casos concretos:

Según la ecuación de regresión  $Y = 0,56 \cdot W^{0,66}$ , la

superficie del huevo es el factor más importante en el metabolismo del huevo, al expresar la relación entre la respiración y el peso de huevos de Drosophila y mosca doméstica, (Edwards, 1953). Sin embargo, los huevos de Rhodnius, obtienen el oxígeno casi por completo, a través del micropilo y pseudomicropilo, siendo el resto del huevo casi totalmente impermeable al oxígeno y agua debido a las capas de cera. Bloqueando el polo del casquete del huevo con parafina u otra sustancia, se reduce el consumo de oxígeno a  $0,02 \text{ mm}^3/\text{huevo/h.}$  no importando la edad ni la razón inicial del consumo de oxígeno del huevo. (Smith and Kleiber, 1950).

En los huevos de Calliphora y Drosophila, cuando se les inyecta una mezcla de partes iguales de aceite de oliva y petróleo, seguido de una fijación con tetróxido de osmio y se colora con etilgalato, el aire queda confinado entre la capa esponjosa interna y las columnas verticales del corion. Si los huevos de Calliphora se exponen en condiciones muy secas, el agua que ocupa normalmente las cavidades en el corion, va siendo reemplazada progresivamente por aire. Este sugiere que la función de los espacios aéreos en estas especies de insectos pudiera ser la conservación del agua. (Wigglesworth and Beament, 1959).

Vemos pues, que en algunos casos, la toma del oxígeno necesario para la respiración, puede realizarse por difusión a través de la superficie general del huevo, pero en la mayoría de los casos existen mecanismos respiratorios especiales. Un ejemplo clásico es el del huevo del escorpión de agua Nepa y Rana--

tra que es insertado en los tallos de plantas acuáticas, pero en el extremo en contacto con el aire tiene un par de largos -- apéndices que según Leuckart se demostró, eran estructuras respi ratorias. (Wigglesworth, 1964).

### 3c .- El pH.

También ha interesado estudiar en este trabajo la influencia del pH en el desarrollo embrionario de los huevos de Ceratitis, dado que en todas las reacciones bioquímicas de la materia viviente, tanto dentro como fuera de la célula tiene -- gran efecto la concentración de  $H^+$  y  $OH^-$  con una significativa importancia en todos los estudios biológicos. Muchas de las especies de insectos nocivos se ven afectados por el pH según el medio en que viven, siendo este factor de primordial importan-- cia para su desarrollo y control. Así, es interesante conocer el pH de las soluciones usadas en experimentos que conduzcan a una dieta alimenticia eficaz, dado que en la naturaleza, las larvas han de desarrollarse en medios con determinados grados de acidez.

Sin embargo existen pocas referencias sobre éste factor en la fase de huevo. El pH de la hemolinfa de diferentes -- órdenes de insectos, sí es conocido; en Lepidóptera, Coleóptera y Orthóptera, varía desde 6,35 a 6,64; de 6,50 a 7,14 y de 6,94 a 7,15 respectivamente (Fink, 1927). También se conoce la varia ción del pH según las distintas fases del desarrollo. Concreta-- mente en el escarabajo de la patata, Leptinotarsa decemlineata, se encontró que el pH medio en las fases de huevo, larva y pupa variaba de 6,79 a 6,95, de 6,58 a 6,71 y de 6,42 a 6,72 respecti

vamente, entre los días 1º y 9º. (Fink, 1927).

3d .- Consideraciones sobre la influencia de factores físico-químicos.

Mientras se desarrolla el embrión está bañado en el líquido amniótico. Después, estando ya formada completamente la larva, puede apreciarse, si la cutícula es suficientemente transparente, que efectúa movimientos para presionar. El cuerpo se extiende hasta que se fija al corion, llegándose a secar la superficie de la larva apareciendo una película de aire entre su cutícula y el corion; entonces es cuando con ejercicios musculares lo rompe y sale. No obstante, en muchos casos, las cubiertas de los huevos, pueden ser demasiado fuertes para lograrlo. En el caso de los huevos de langosta, lo que ocurre es que su gruesa cutícula es primero digerida y disuelta por enzimas (quitinasa y proteinasa), quedando sólo una capa epicuticular muy fina que rompe fácilmente. En otros casos existen cubiertas circulares (Himenoptera y piojos) que son separadas, saliendo las larvas por la abertura. En los dípteros, hay una hendidura en el corion a lo largo de la superficie del huevo; esto sirve para la entrada del oxígeno y para proporcionar una zona débil que facilite la eclosión. Otras larvas poseen espinas con este propósito que después no aparecen en los siguientes estados de desarrollo, etc. (Wigglesworth, 1964).

Pues bien, todo éste proceso puede verse afectado por el efecto de los factores que son objeto de éste trabajo, como ya hemos apuntado, de tal forma que tenga ó no lugar la eclosión.

Incluso antes de que se llegue a una alta organización pueden - provocar desequilibrios iónicos, osmóticos ó de otra índole que terminen por detener el desarrollo. Sabemos que la primera diferenciación embrionaria es la formación de la banda germinativa por agregación de las células blastodérmicas. Aunque el núcleo contiene determinantes genéticos de los caracteres hereditarios, la forma y organización del embrión es controlada por el cito--plasma. Sin embargo, la constitución de éste, refleja la acción previa de los genes. La iniciación de la organización embriónica en todos los insectos está controlada por la interacción de tres centros diferentes: El centro de segmentación, hacia donde se dirige el movimiento periférico de los núcleos segmentados; el centro de activación y el de diferenciación. El centro de activación está localizado en el polo posterior del huevo e interacciona con el núcleo segmentado para producir una sustancia - específica que se difunde desde el centro hacia la zona periférica del huevo. Pues bien, si el polo posterior de éste, es des--truido ó quemado con luz ultravioleta, por ejemplo, en los estados segmentacionales primitivos, no se forma la banda germinativa. (O'Brien and Wolfe, 1964). Efectos semejantes a éstos - son los que pueden tener lugar cuando se somete a los huevos a tratamientos con diversos productos químicos de naturaleza electrolítica o no electrolítica, a diferentes pHs.

## M A T E R I A L   Y   M E T O D O S

=====

### 1 .- TECNICAS EXPERIMENTALES.

En todos los experimentos se utilizaron huevos de Ce-  
ratitis capitata (Wied.) procedentes de poblaciones, obtenidas  
mediante cría masiva en el laboratorio, utilizando como alimen-  
to larvario un medio que contiene azúcar y levadura como sustan-  
cias nutritivas, salvado para dar la estructura adecuada, Nipa-  
sol y Nipagin como conservadores y ClH para ajustar el pH a 4,1;  
todo ello con la debida proporción de agua. Los adultos permane-  
cieron siempre en cajas cúbicas especialmente diseñadas manteni-  
das en una cámara climatizada a 25°C (dia) y 18°C (noche) con -  
fotoperiodo de 16 horas y humedad relativa del 60%. Tales cajas  
tienen acoplada en una de sus caras un panel de nylon de malla  
muy fina para facilitar a las hembras la puesta de huevos y por  
otro una manga de tela para que resulte fácil la colocación de  
una cápsula con comida, a base de 75% de azúcar y 25% de hidro-  
lizado de levadura, y de un dispositivo para la bebida, consis-  
tente en un frasco lleno de agua e invertido que descansa sobre  
una placa en la que se han colocado unos discos de celulosa que  
proporcionan la superficie húmeda apta para la toma del líquido.  
Debajo del panel de nylon y de la manga se colocan unas bandejas

con agua para proceder a la recogida de los huevos, siempre con menos de 4 horas de edad. Estos se decantan y se lavan con agua destilada, utilizando un embudo de Büchner adaptado a un matraz con tubuladura lateral para la bomba de vacío y a continuación se transportan a cápsulas Petri de unos 4 cm. de diámetro, sobre un disco de tela negro para ofrecer el contraste necesario conteniendo las disoluciones a ensayar, evitando en todo lo posible las pérdidas de humedad puesto que en el caso de producirse darían lugar a un aumento de la concentración que falsearía los resultados. Con este fin se interpusieron entre el fondo de las placas y el disco de tela, otros dos de celulo-sa. Para asegurarse más de que no se producía evaporación, se humedeció la tapa de cada placa con agua destilada, vertiéndose una porción del mismo líquido en otra de mayor diámetro, dentro de la que se introdujeron las pequeñas. En cada experimente se utilizó un nº variable de las placas pequeñas, cada una de las cuales contenía 50 huevos dispuestos en 5 filas de 10 para ser más fácil el conteo de los no eclosionados. Previamente a la colocación de los huevos se habían vertido unos 2 cc. de la solución del producto a estudiar de forma que proporcionase un medio suficientemente húmedo al sistema, quedando todos los huevos en perfecto contacto con la solución. El nº de réplicas que se hizo de cada experimento fué muy variable, dependiendo del grado de constancia de los datos obtenidos.

El conjunto de estas placas, junto con otra que contenía agua destilada como control, se transportó a una cámara -

climatizada a 25°C y humedad relativa del orden del 60%, procediéndose, al cabo de noventa y seis horas, a deducir los porcentajes de mortalidad en cada caso.

Los productos utilizados en todos los experimentos poseían un elevado grado de pureza fabricados para análisis. Fueron los siguientes: Glucosa, cloruros de litio, sodio, potasio y calcio; nitratos de litio, sodio, potasio y calcio; sulfatos de litio, sodio y potasio; Acetato sódico, urea y Carbonato sódico. La preparación de las soluciones correspondientes se hizo pesando las sustancias en una balanza eléctrica monoplato de -- precisión con una sensibilidad de 0,0001 grs. Para el enrase de las soluciones se utilizaron matraces aforados de 50 cc.. Cuando fué necesario el ajuste de estas soluciones a un pH determinado se utilizaron ácidos ( ó bases), cuyo anión ( ó catión) era el mismo que el de la sal correspondiente para no introducir iones diferentes que interfiriesen los resultados.

Las soluciones se ajustaron aproximadamente a  $\overline{\text{pH}}$  1, 4, 10 y 12.

Los datos de presión osmótica que aparecen en la Tabla I han sido calculados a partir de los coeficientes osmóticos -- (g) encontrados en la bibliografía (Robinson and Stokes, 1949; Stokes, 1948) mediante la expresión:

$\Pi = C R T i$       siendo  $\Pi$  la presión osmótica en atm.; C la concentración molar; R la cte de los gases, T la temperatura absoluta, e i el factor de Vant'Hoff cuyos significados ya se han explicado en el capítulo de Introducción.

T A B L A I

Valores de la presión osmótica, de diferentes soluciones de productos químicos a partir de valores experimentales del coeficiente osmótico. (  $m$  = molalidad de la solución;  $g$  = coeficiente osmótico;  $i$  = factor de Vant'Hoff;  $\nu$  = nº de iones procedentes de la disociación de la sal;  $\Pi$  = presión osmótica, en atm.).

Glucosa

<u>m</u>	<u><math>\Pi</math></u>
0,1	2,410
0,2	4,790
0,3	7,210
0,4	9,640
0,5	12,140
0,6	15,500
0,7	17,000
0,8	19,400
0,9	21,800
1,0	24,300

Cl Li

<u>m</u>	<u>g</u>	<u><math>i = \nu \cdot g</math></u>	<u><math>\Pi</math></u>
0,1	0,939	1,878	4,589
0,2	0,939	1,878	9,178
0,3	0,945	1,890	13,393
0,4	0,954	1,908	18,183
0,5	0,963	1,926	23,060

Cl Li (Continuación)

<u>m</u>	<u>g</u>	<u>i = <math>\nu \cdot g</math></u>	<u><math>\pi</math></u>
0,6	0,973	1,946	27,581
0,7	0,984	1,968	32,700
0,8	0,995	1,990	37,443
0,9	1,006	2,012	42,282
1,0	1,018	2,036	47,763
1,2	1,041	2,082	57,999
1,4	1,066	2,132	68,768
1,6	1,091	2,182	79,980
1,8	1,116	2,232	91,083
2,0	1,142	2,284	102,695
2,5	1,212	2,424	133,865
3,0	1,286	2,572	167,179
3,5	1,366	2,732	202,948
4,0	1,449	2,898	242,190
4,5	1,533	3,066	283,201
5,0	1,619	3,238	325,991
5,5	1,705	3,410	371,637
6,0	1,791	3,582	418,393

Cl Na

0,1	0,932	1,864	4,545
0,2	0,925	1,850	9,041
0,3	0,921	1,842	13,049
0,5	0,922	1,844	21,626
0,7	0,926	1,852	30,325
1,0	0,938	1,876	43,081

Cl Na (Continuación)

<u>m</u>	<u>g</u>	<u>i = <math>\nu \cdot g</math></u>	<u><math>\pi</math></u>
1,5	0,959	1,918	64,682
2,0	0,986	1,972	86,259
2,5	1,017	2,034	108,349
3,0	1,050	2,100	130,855
3,5	1,085	2,170	153,776
4,0	1,122	2,244	177,674

Cl K

0,1	0,926	1,852	4,521
0,2	0,913	1,826	8,919
0,3	0,906	1,812	12,829
0,5	0,900	1,800	21,113
0,7	0,898	1,796	28,957
1,0	0,899	1,798	40,857
1,5	0,906	1,812	59,770
2,0	0,915	1,830	77,804
2,5	0,927	1,854	95,594
3,0	0,941	1,882	112,674
3,5	0,955	1,910	129,291
4,0	0,970	1,940	146,005

Cl<sub>2</sub> Ca

0,1	0,854	2,562	6,256
0,2	0,862	2,586	11,998
0,3	0,876	2,628	18,620

Cl<sub>2</sub> Ca (Continuación)

<u>m</u>	<u>g</u>	<u>i = √. g</u>	<u>π</u>
0,4	0,894	2,682	24,900
0,5	0,917	2,751	31,596
0,7	0,963	2,889	45,891
1,0	1,046	3,138	69,007
1,6	1,237	3,701	122,986
2,0	1,376	4,128	165,432
2,5	1,568	4,704	225,300
3,0	1,779	5,337	293,427
3,5	1,981	5,943	365,954
4,0	2,182	6,546	443,074

NO<sub>3</sub> Li

0,1	0,938	1,876	4,584
0,2	0,935	1,870	9,139
0,3	0,940	1,880	13,322
0,4	0,946	1,892	18,031
0,5	0,954	1,908	22,378
0,6	0,962	1,924	27,268
0,7	0,970	1,940	31,762
0,8	0,978	1,956	36,327
0,9	0,987	1,974	41,001
1,0	0,997	1,994	45,314
1,2	1,015	2,030	55,062
1,4	1,033	2,066	64,621
1,6	1,052	2,104	74,036

NO<sub>3</sub> Li (Continuación)

<u>m</u>	<u>g</u>	<u>i = ∫. g</u>	<u>π</u>
1,8	1,070	2,140	83,669
2,0	1,088	2,176	93,585
2,5	1,134	2,268	118,045
3,0	1,181	2,362	143,141
3,5	1,227	2,454	169,104
4,0	1,270	2,540	194,271
4,5	1,312	2,624	219,931
5,0	1,352	2,704	245,799
5,5	1,387	2,774	270,465
6,0	1,420	2,840	294,248

NO<sub>3</sub> Na

0,1	0,921	1,842	4,496
0,2	0,902	1,804	8,821
0,3	0,890	1,780	12,609
0,4	0,881	1,762	16,788
0,5	0,873	1,746	20,477
0,7	0,862	1,724	27,808
1,0	0,851	1,702	38,267
1,6	0,835	1,670	57,547
2,0	0,826	1,652	69,032
2,5	0,817	1,634	82,252
3,0	0,810	1,620	94,616
3,5	0,804	1,608	106,101
4,0	0,797	1,594	116,071

NO<sub>3</sub> K

50

<u>m</u>	<u>g</u>	<u>i = λ).g</u>	<u>π</u>
0,1	0,906	1,812	4,423
0,2	0,873	1,746	8,113
0,3	0,851	1,702	12,071
0,4	0,833	1,666	15,468
0,5	0,817	1,634	18,767
0,7	0,790	1,580	25,096
1,0	0,756	1,512	36,581
1,6	0,700	1,400	47,210
2,0	0,669	1,338	54,272
2,5	0,631	1,262	61,359
3,0	0,602	1,204	67,663
3,5	0,577	1,154	72,746

(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> Ca

0,1	0,827	2,481	6,060
0,2	0,819	2,457	11,412
0,3	0,818	2,454	16,788
0,4	0,821	2,463	22,261
0,5	0,825	2,475	27,833
0,7	0,837	2,511	38,658
1,0	0,859	2,577	54,150
1,6	0,917	2,751	85,379
2,0	0,953	2,859	104,806
2,5	1,001	3,003	129,877
3,0	1,051	3,153	154,875
3,5	1,103	3,309	179,507
4,0	1,157	3,471	204,407

<u>m</u>	<u>g</u>	<u>i = \gamma \cdot g</u>	<u>\pi</u>
0,1	0,793	2,379	5,672
0,2	0,753	2,259	11,040
0,3	0,725	2,175	15,412
0,4	0,705	2,115	20,156
0,5	0,690	2,070	24,778
0,6	0,678	2,034	29,323
0,7	0,667	2,001	33,746
0,8	0,658	1,974	38,096
0,9	0,650	1,950	42,421
1,0	0,642	1,926	46,111
1,2	0,631	1,893	54,590
1,4	0,625	1,875	63,240
1,6	0,621	1,863	71,940
1,8	0,620	1,860	80,443
2,0	0,621	1,863	89,680
2,5	0,635	1,905	114,507
3,0	0,661	1,983	142,951
3,5	0,696	2,028	170,979
4,0	0,740	2,220	213,742

0,1	0,779	2,337	5,718
0,2	0,742	2,226	10,874
0,3	0,721	2,163	15,321
0,4	0,703	2,109	20,111
0,5	0,691	2,073	24,827
0,6	0,679	2,037	29,372
0,7	0,670	2,010	33,893

Ac Na

<u>m</u>	<u>g</u>	<u>i = <math>\nu \cdot g</math></u>	<u><math>\pi</math></u>
0,1	0,940	1,880	4,594
0,2	0,939	1,878	9,178
0,3	0,945	1,890	13,393
0,4	0,951	1,902	18,126
0,5	0,959	1,918	22,496
0,6	0,967	1,934	26,938
0,7	0,977	1,954	31,513
0,8	0,986	1,972	36,141
0,9	0,994	1,988	40,806
1,0	1,002	2,004	45,053
1,2	1,018	2,036	54,228
1,4	1,035	2,070	63,228
1,6	1,057	2,114	72,836
1,8	1,074	2,148	82,408
2,0	1,092	2,184	91,794
2,5	1,137	2,274	115,025
3,0	1,181	2,362	139,099
3,5	1,223	2,446	162,574

Con objeto de obtener los valores de  $\Pi$  correspondientes a las concentraciones de las soluciones utilizadas experimentalmente, se ajustaron los calculados teóricamente a funciones del grado necesario por el método de regresión polinómica, que aparecen en la Tabla II y fig. 1. A partir de éstas funciones se obtuvieron los valores de  $\Pi$  que se incluyen en las Tablas.

Como puede observarse en éstas tablas, se expresa la concentración de las soluciones utilizadas en unidades diferentes, [tanto por mil, molaridad (c), normalidad (N), molalidad (m), actividad molal ( $a_m$ )] con el fin de hacer después un estudio comparativo para deducir cuál de ellas es la que mejor refleja la ley mortalidad-dosis.

También hemos de señalar que en cuanto a los datos de mortalidad, aparecen la observada experimentalmente y la corregida. Esta se ha incluido y sobre ella se basa la discusión de los resultados, para eliminar la mortalidad natural, que en cada caso se ha obtenido aplicando la fórmula de Abbot:

$$P = \frac{P' - C}{1 - C}$$

siendo P la mortalidad conseguida; P' la observada y C la del control (Busvine, 1957). Cuando se trata de soluciones concentradas de electrolitos, ya se explicó en el capítulo de Introducción, que su comportamiento real no se corresponde con el relativo a las concentraciones teóricas, por lo que es necesario modificar las unidades convencionales transformándolas en acti-

T A B L A II

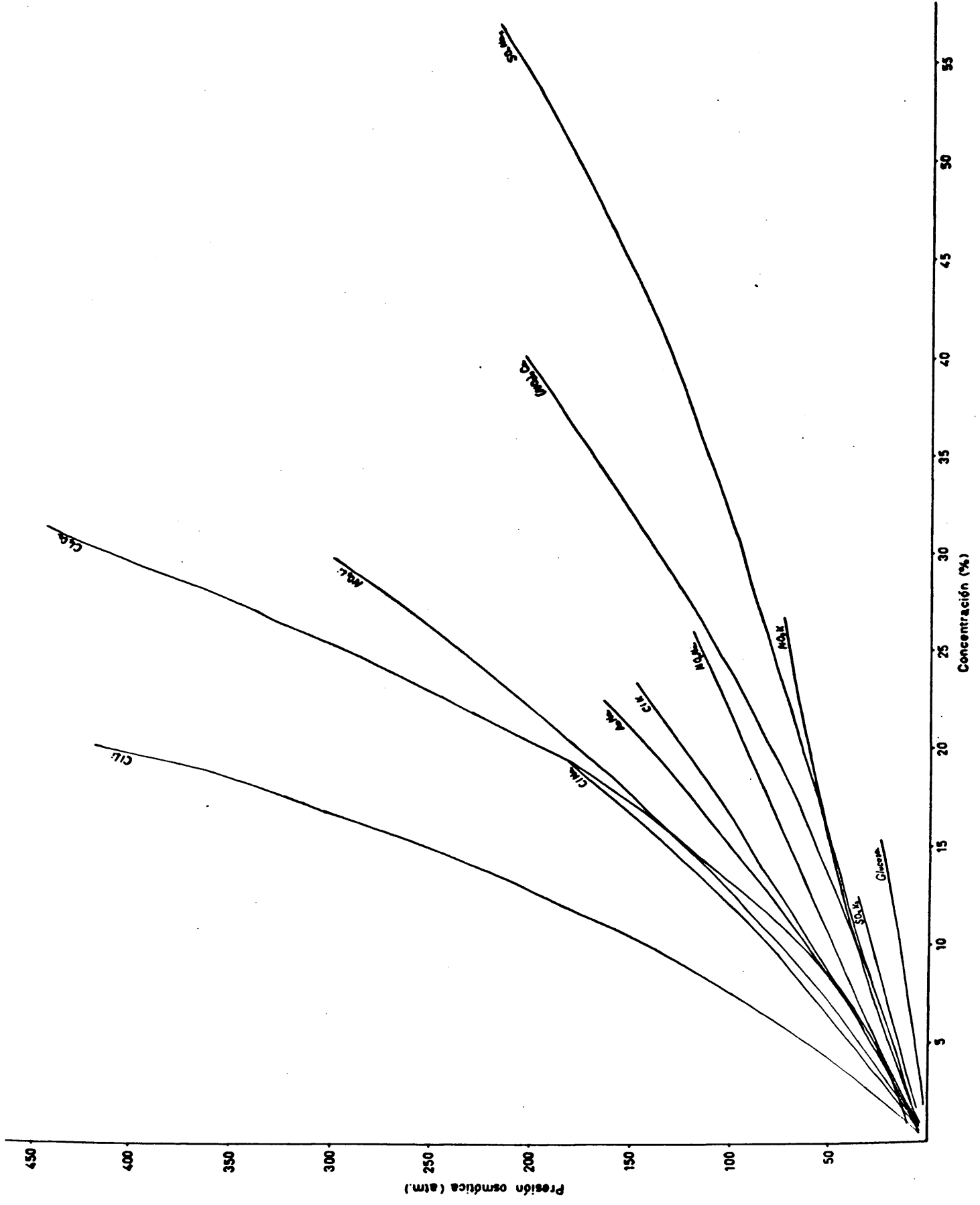
---

Funciones polinómicas que relacionan la presión osmótica con la concentración para diversos productos químicos. ( $\Pi$  = presión osmótica, en atm.; X = concentración en %).

Glucosa	$\Pi = - 0,2679 + 1,4229 X + 0,0119 X^2$
Cl Li	$\Pi = 0,2094 + 10,4209 X + 0,2501 X^2 + 0,0126 X^3$
Cl Na	$\Pi = 1,7379 + 6,4444 X + 0,1483 X^2$
Cl K	$\Pi = 0,7528 + 5,4876 X + 0,0356 X^2$
Cl <sub>2</sub> Ca	$\Pi = 10,4655 + 1,2128 X + 0,4116 X^2$
NO <sub>3</sub> Li	$\Pi = 1,0385 + 5,9503 X + 0,1396 X^2$
NO <sub>3</sub> Na	$\Pi = 0,5321 + 4,9351 X - 0,0149 X^2$
NO <sub>3</sub> K	$\Pi = 0,5278 + 4,0343 X - 0,0492 X^2$
(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Ca	$\Pi = 2,8397 + 2,7344 X + 0,0580 X^2$
SO <sub>4</sub> Na <sub>2</sub>	$\Pi = 0,8708 + 3,6167 X - 0,0348 X^2 + 0,0007 X^3$
SO <sub>4</sub> K <sub>2</sub>	$\Pi = 0,7199 + 3,0082 X - 0,0308 X^2 + 0,0009 X^3$
Ac Na	$\Pi = 0,7263 + 5,1235 X + 0,0951 X^2$

Fig. 1

Variación de la presión osmótica con la concentración, en %, de soluciones de diferentes productos químicos, según las funciones ajustadas por regresión polinómica que aparecen en la TABLA II.



vidades, incluyendo así los efectos debidos a las interacciones iónicas, formación de dipolos, etc. Para el cálculo de las actividades a partir de las concentraciones es necesario conocer los correspondientes coeficientes de actividad. En la bibliografía consultada (Robinson R.A. and Stokes, R.A., 1959) - sólo se encuentran los valores experimentales de los coeficientes de actividad molal. Se han representado gráficamente (Fig.2) obteniéndose los que interesan a partir de las curvas, y con éstos valores se han calculado los de la actividad, a partir de la expresión  $a_m = m^2 \gamma_{\pm}^2$  para electrolitos del tipo 1:1 y de  $a_m = 4 m^3 \gamma_{\pm}^3$  para los del 1:2 ó 2:1.

Cuando se estudian los efectos de los productos en soluciones a diferentes pH no se incluyen en los datos que aparecen en las Tablas correspondientes los valores de las actividades, puesto que en la bibliografía no existen los de los coeficientes de actividad a esos pHs.

## 2 .- ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS.

A la vista de las representaciones gráficas de las mortalidades de huevos frente a las diferentes dosis y observando que su relación se correspondía con curvas de tipo sigmoideo se pensó en la posibilidad de someter los resultados obtenidos a un análisis estadístico de probits basado en la respuesta cuantitativa. El término "probit", abreviatura de "probability unit", se utiliza para evitar los valores negativos de la variable (dosis logarítmica). Es, sencillamente, la abcisa correspondiente a la probabilidad  $p$ , en una distribución normal de media 5 y --

Fig. 2

Variación del coeficiente de actividad molal con la concentración molal de soluciones de electrolitos.



desviación típica 1. Por éste método, el tratamiento de los datos se aproxima a una valoración cuantitativa con las proporciones de individuos, (huevos en nuestro caso), de cada lote que reaccionan de una forma determinada. De esta forma se estima la magnitud de la dosis necesaria para producir la muerte en una población considerada y así es posible realizar un estudio comparativo de la toxicidad de los productos químicos.

Para este fin se elaboró en el centro de cálculo electrónico del C.S.I.C., en primer lugar, un programa aplicando el método de máxima verosimilitud (Probit-MV) y después otro basado en el método de mínimos cuadrados (Probit-MC) escritos ambos en lenguaje Fortran IV y procesados en una computadora IBM --- 360/44 con objeto de contrastar las informaciones que de ambos métodos se obtienen y elegir las ecuaciones que representen mejor la ley que define la relación existente entre mortalidad y dosis. Hemos de hacer constar que en ambas soluciones se obtiene la siguiente información:

- 1.-) Ecuación de probits.- Relaciona el probit, (nueva escala de mortalidad), con la dosis logarítmica. Al transformar mortalidades en probits, las curvas sigmoideas se traducen en rectas).
- 2.-) Correlación entre los probits correspondientes a las frecuencias de respuesta  $p_i$  con las dosis logarítmicas, con lo que puede decidirse si el método empleado es adecuado ó no.
- 3.-) Heterogeneidad.- Tanto mayor cuanto más fuerte es la dispersión en las dosis empleadas. Puede construirse un test de significación relativo a una heterogeneidad compuesta en la que interviene no sólo la dispersión de la dosificación sino la dis

crepancia entre las respuestas observadas y las esperadas. Aunque, como hemos dicho, la información que se obtiene por ambos métodos es la misma, el cálculo de  $a$  y  $b$  en la ecuación de probits  $y = a + bx$  se realiza de forma distinta.

El método de mínimos cuadrados, como es bien sabido, consiste en hacer mínima la cantidad  $\sum (y_i - a - bx_i)^2$ , es decir, la suma de las diferencias cuadráticas entre las  $y_i$  observadas y las calculadas con la fórmula  $y = a + bx$ .

El método de máxima verosimilitud consiste en hacer máxima la cantidad  $L = \prod_{i=1}^K \binom{n_i}{r_i} p^{r_i} q^{n_i - r_i}$ , siendo  $K$  el nº de muestras de tamaños  $n_1, n_2, \dots, n_k$ ;  $p$  la probabilidad de respuesta y  $q$  la de no respuesta, repitiéndose  $p, r$  veces y  $q, n-r$  veces. Este método está basado en una serie de hipótesis que previamente han de cumplirse para que sea correcta su aplicación (Gil y Muñiz, 1975). Comparando la información obtenida por ambos métodos se llega a las siguientes conclusiones:

- 1.-) La correlación entre los probits y las dosis es superior por el método de máxima verosimilitud en la mayor parte de los casos.
- 2.-) El factor de heterogeneidad es notablemente inferior en el caso de mínimos cuadrados con niveles de significación del mismo orden, aunque siempre muy elevados.
- 3.-) Según las tablas de correlación, los análisis que deben rechazarse por no ser significativos al 95 % son muy pocos.

Atendiendo, pues, que los valores de las correlaciones

entre los probits observados y la dosis, son más altas por el método de máxima verosimilitud, se ha decidido que ésta es la solución que expresa mejor la relación existente entre ambas magnitudes, siendo la utilizada para obtener la información que aparece en las tablas del capítulo de resultados.

Los datos de actividad media molal correspondientes a una concentración 4 molal y los probits obtenidos de las ecuaciones de la TABLA XXXV para los electrolitos ensayados, se sometieron en primer lugar a un análisis de regresión polinómica utilizando el ordenador IBM 360/44 del Centro de Cálculo Electrónico del C.S.I.C. para establecer una correlación entre los logaritmos de ambas variables, obteniéndose una recta del tipo  $\log. p = a_0 + a_1 \log. a_m$  es decir  $p = 10^{a_0} \cdot a_m^{a_1}$  y a continuación, los valores  $a_0$  y  $a_1$  se procesaron en la misma computadora como parámetros iniciales de un método diferencial de estimación paramétrica para obtener los óptimos.

## RESULTADOS Y DISCUSION

=====

Dado que la simple exposición de los resultados obtenidos a lo largo de los diferentes experimentos realizados en este trabajo sería demasiado árida, se han preferido incluir en éste capítulo algunos comentarios a las tablas y gráficas, así como la discusión de los mismos.

En los primeros experimentos, se trataron los huevos de Ceratitidis con glucosa, compuesto no disociable, obteniéndose los resultados que aparecen en la TABLA III. Observamos que su efecto tóxico es menor que el del control, ( $H_2O$ ), excepto para una concentración del 56 % en que sólo le supera en un 3,10 %.- Hacemos notar que aunque en esta tabla y en las restantes, aparece como una unidad de concentración el "tanto por mil" por seguir una regularidad respecto a las demás, (molaridad, molalidad y normalidad), que se definen utilizando como referencia el litro, (molaridad y normalidad), y el Kg., (molalidad), en los comentarios de los resultados, utilizamos "tanto por ciento" por ser más usual. Respecto a la presión osmótica, hemos de señalar lo mismo, así como en las demás unidades de concentración, resumiendo, pues, que no se alcanzan niveles de mortalidad notables incluso a las más altas concentraciones, lo que indica el escasísimo efecto tóxico del producto, (Fig. 3,4,6 y 7).

T A B L A III

Variación de la mortalidad en huevos de Ceratitidis capitata (Wied.) con diferentes soluciones de Glucosa.

<u>%o</u>	<u>π</u>	<u>C</u>	<u>m</u>	<u>Huevos puestos</u>	<u>Mortalidad (%)</u>	<u>Mortalidad corregida</u>
40,00	5,614	0,22	0,23	650	7,24	1,63
80,00	11,877	0,44	0,48	650	7,39	1,79
120,00	18,520	0,67	0,75	650	6,77	1,13
160,00	25,545	0,89	1,06	650	9,70	4,24
200,00	32,950	1,11	1,39	650	7,54	1,95
240,00	40,736	1,33	1,75	550	8,91	3,40
320,00	45,265	1,78	2,61	550	8,00	2,44
400,00	75,688	2,22	3,70	550	8,55	3,02
560,00	116,733	3,11	5,75	550	14,00	8,80
Control (H <sub>2</sub> O)	.....	.....	.....	650	5,70	--

Fig. 3

Variación de la mortalidad corregida en huevos de Ceratitidis capitata (Wied.)  
con la concentración en ‰ de soluciones de diferentes productos químicos

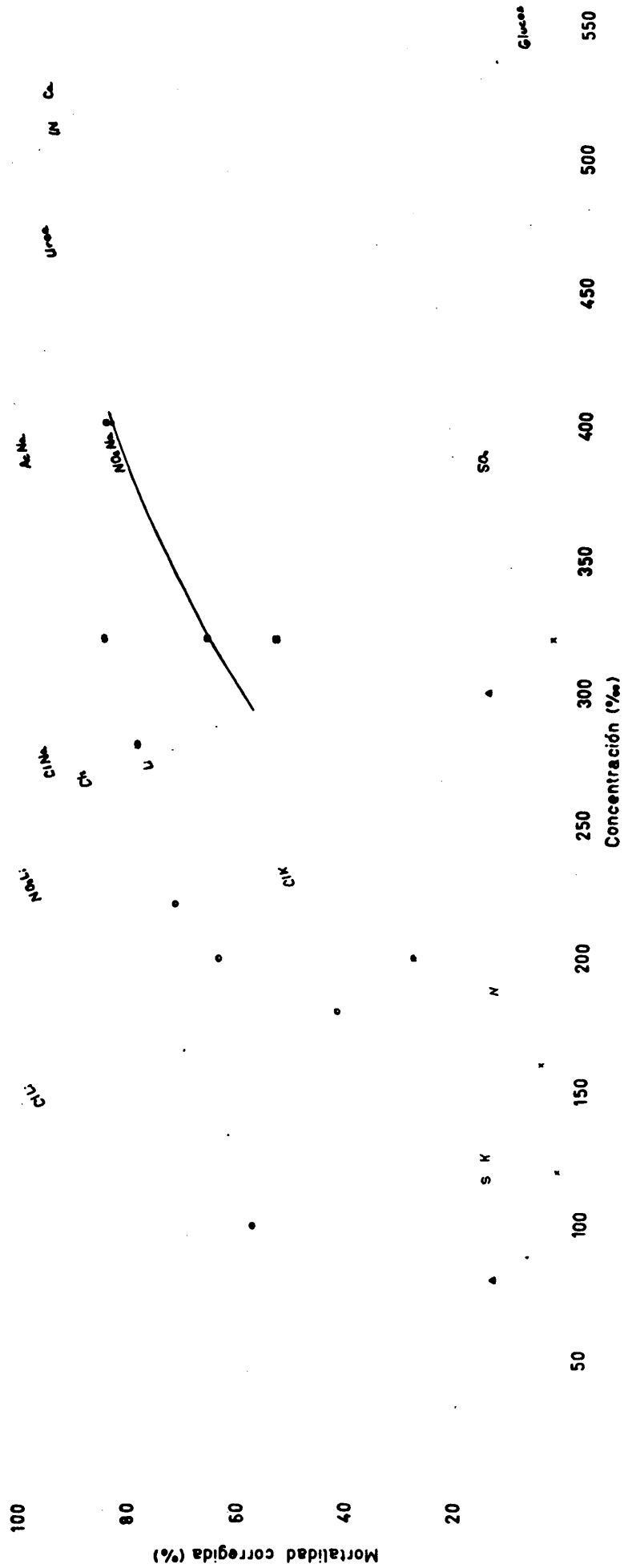


Fig. 4

Variación de la mortalidad corregida en huevos de Ceratitis capitata (Wied.), con la presión osmótica de soluciones de diferentes productos químicos.

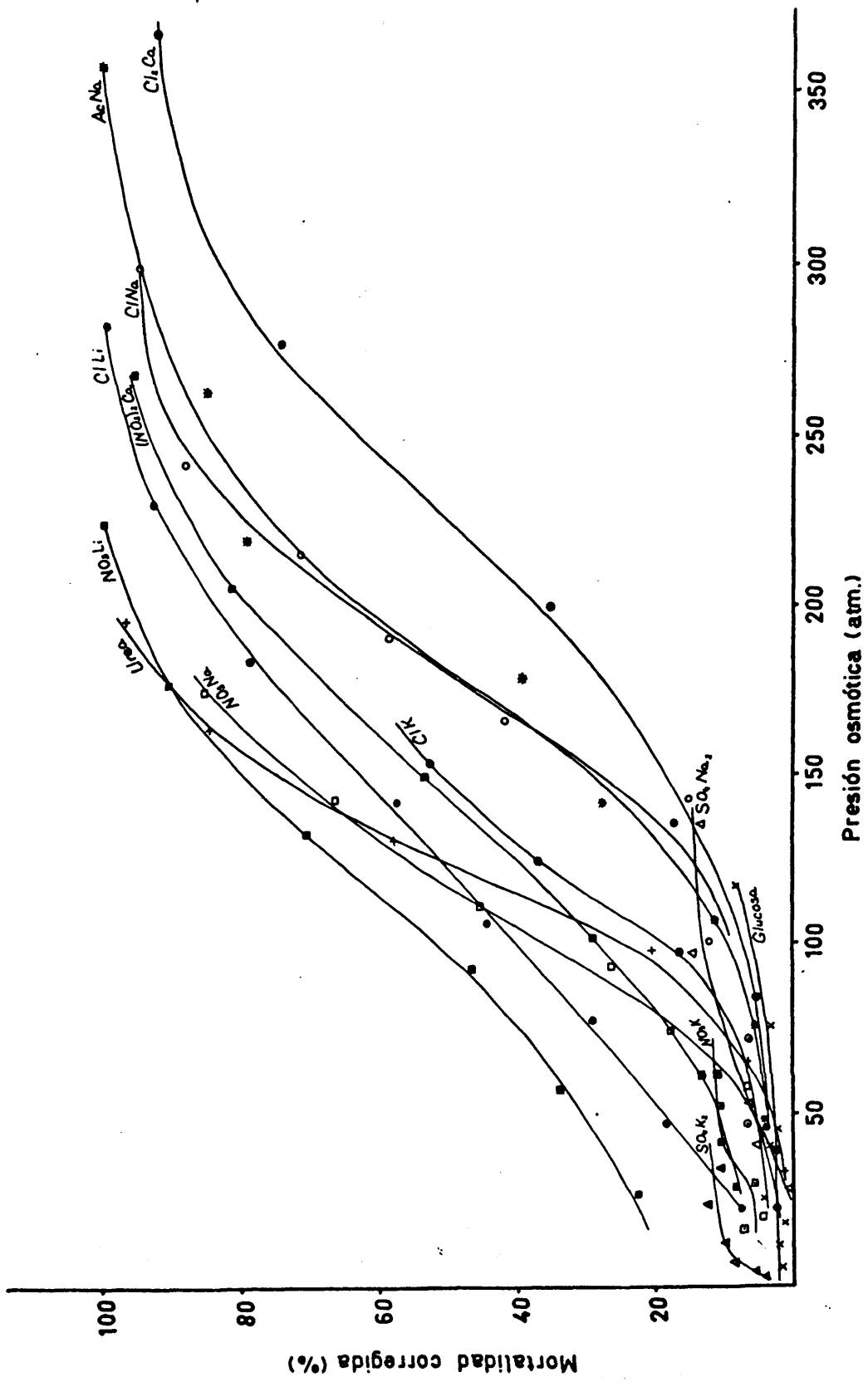


Fig. 5

Variación de la mortalidad corregida en huevos de Ceratitidis capitata (Wied.), con la concentración normal de soluciones de diferentes productos químicos.

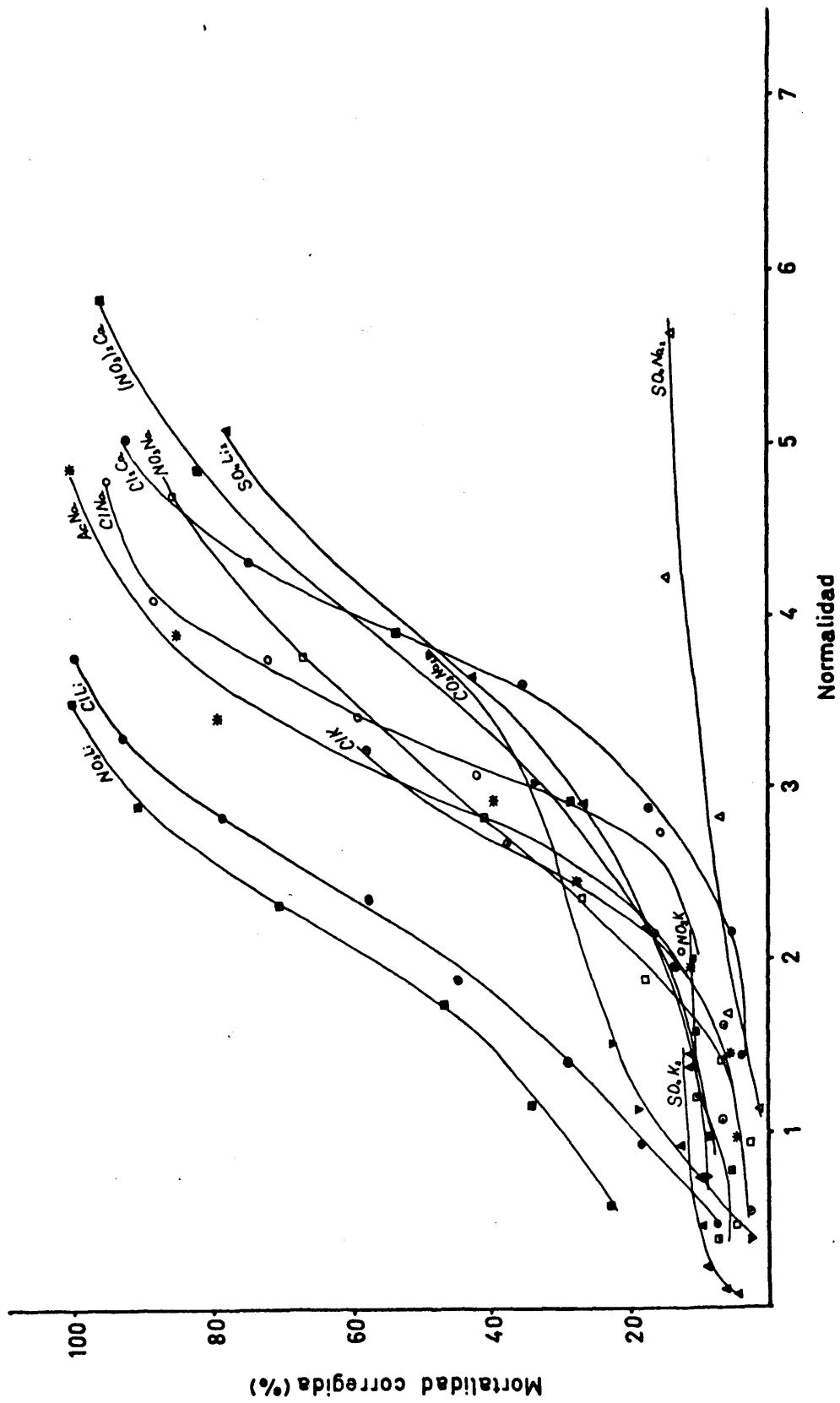


Fig. 6

Variación de la mortalidad causada en huevos de Ceratitidis capitata (Wied.), con la concentración molar de soluciones de diferentes productos químicos.

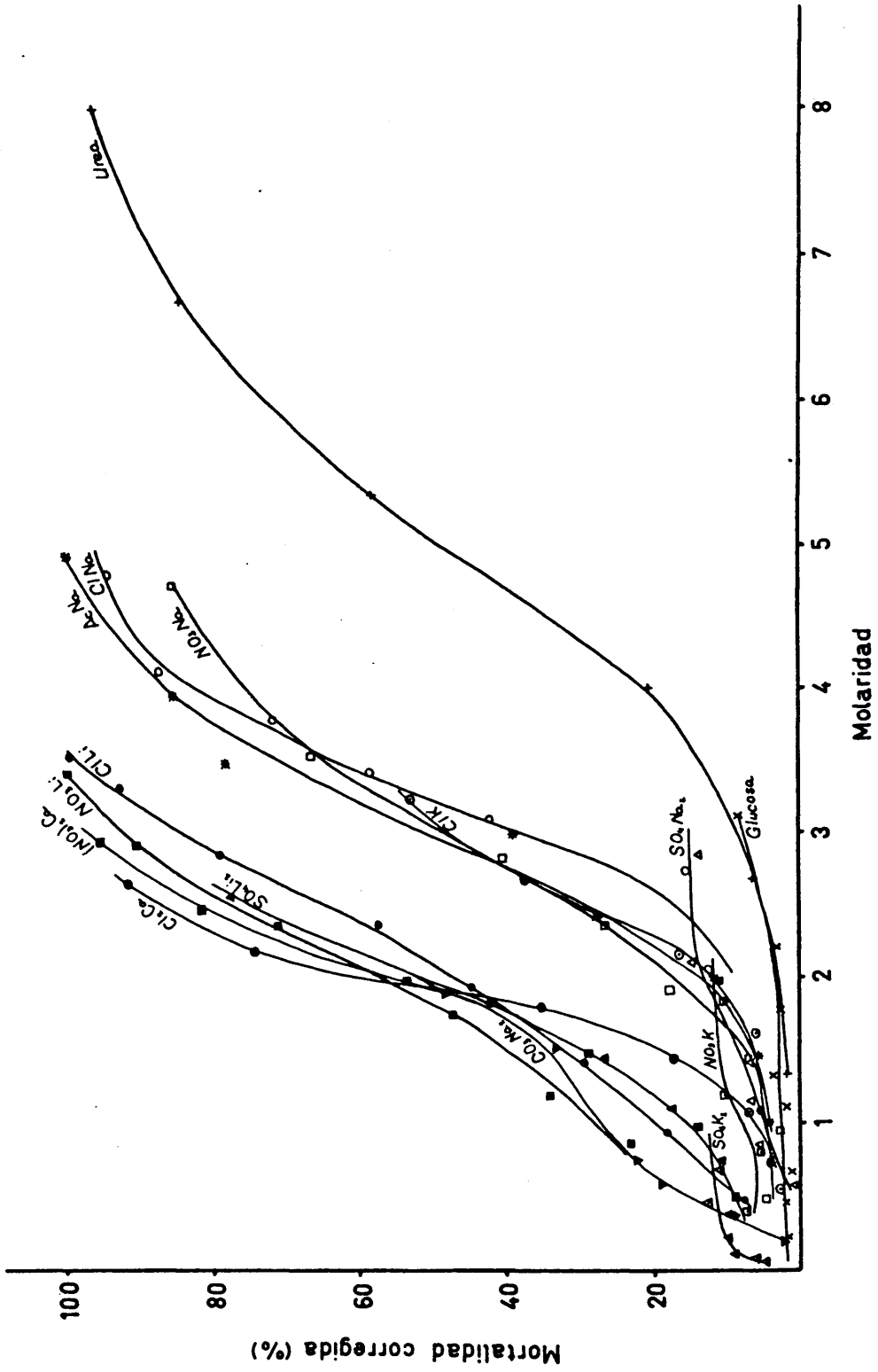
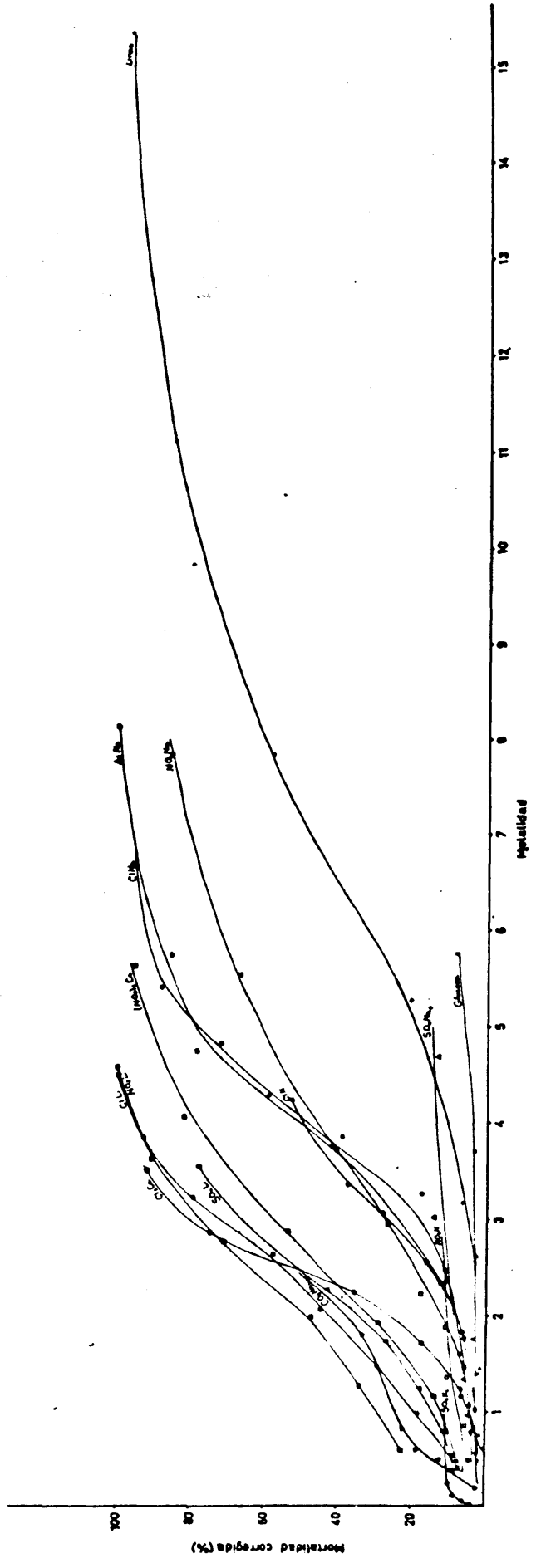


Fig. 7

Variación de la mortalidad corregida en huevos de Ceratitis capitata (Wied.) con la concentración molar de soluciones de diferentes productos químicos.



A continuación, y con el objeto de estudiar la influencia de compuestos electrolíticos, se ensayaron los cloruros de litio, sodio, potasio y calcio. Tal influencia queda reflejada en la TABLA V, donde, además de las columnas que se incluyen -- en la glucosa, aparece la actividad molal, calculada como ya se indicó en el capítulo de Material y métodos a partir de los coeficientes de actividad (TABLA IV). Para estos cuatro cloruros - conviene que hagamos unas consideraciones de forma detallada, estudiando los datos de mortalidad respecto a los de concentración y presión osmótica con el fin de establecer las diferencias que existen entre ellos en cuanto a toxicidad se refiere.

Ante todo observamos que, en cualquier caso, su carácter letal es muy superior al de la glucosa.

Refiriéndonos a la columna en que se expresa la concentración de las soluciones en ‰, observamos que es más tóxico el cloruro de litio, con el que se obtiene un rápido aumento de los niveles de mortalidad llegándose a obtener un 99,6 ‰ para una concentración en la sal del 16 ‰. El cloruro sódico, a esta concentración, ocasiona un 15,29 ‰; el de calcio un 17,21% y el de potasio 16,02 ‰. Sin embargo, tomando como punto de partida para estos tres cloruros la concentración del cloruro sódico que produce la máxima mortalidad, es decir, el 28 ‰, observamos que con el cloruro cálcico se alcanza un 91,93 ‰ y con el - de potasio se llega al 52,7 ‰ para un 24 ‰ en la sal, no pudiendo ensayarse niveles superiores de concentración por impedimentos de solubilidad (Fig. 3). Para la columna de presión osmóti-

T A B L A    IV

Actividad media molal correspondiente a diferentes soluciones de electrolitos.

(  $\overline{\text{pH}}$  = pH medio de las distintas soluciones;  $m$  = molalidad;  $\gamma_{\pm}$  = coeficiente de actividad medio molal obtenido por interpolación ó extrapolación de las gráficas de la Fig. 2;  $a_m$  = actividad media molal.)

Cl Li ( $\overline{\text{pH}}= 5,73$ )		Cl Na ( $\overline{\text{pH}}= 5,79$ )		Cl K ( $\overline{\text{pH}}= 6,84$ )		Cl <sub>2</sub> Ca ( $\overline{\text{pH}}= 8,26$ )	
$m$	$\gamma_{\pm}$	$m$	$\gamma_{\pm}$	$m$	$\gamma_{\pm}$	$m$	$\gamma_{\pm}$
	$a_m$	$a_m$		$a_m$		$a_m$	
0,48	0,74	2,33	0,68	2,510	0,64	0,78	0,47
0,98	0,77	3,26	0,72	5,510	0,59	1,23	0,54
1,46	0,83	3,75	0,77	8,340	0,57	1,71	0,67
2,05	0,93	4,28	0,81	12,020	0,57	2,25	0,91
2,62	1,05	4,82	0,86	17,180	0,57	2,84	1,35
3,21	1,21	5,40	0,92	24,680	0,58	3,50	2,08
3,84	1,44	6,65	1,09	52,540			
4,49	1,74	61,040					
							6,020
							45,560
							225,430
							1.543,310



T A B L A IV (Continuación)

$SO_4Li_2$ ( $\overline{pH}=5,58$ )		$SO_4Na_2$ ( $\overline{pH}=5,27$ )		$SO_4K_2$ ( $\overline{pH}=6,58$ )		Ac Na ( $\overline{pH}=9,26$ )	
m	$\gamma_{\pm}$ a m	m	$\gamma_{\pm}$ a m	m	$\gamma_{\pm}$ a m	m	$\gamma_{\pm}$ a m
0,38	0,34 0,010	0,61	0,24 0,010	0,03	0,52 0,000015	1,06	0,77 0,670
0,79	0,29 0,050	0,96	0,20 0,030	0,06	0,48 0,000095	1,66	0,82 1,850
1,24	0,27 0,150	1,34	0,17 0,050	0,12	0,41 0,000476	2,32	0,89 4,260
1,73	0,26 0,360	1,76	0,16 0,090	0,24	0,34 0,002173	3,05	0,99 9,120
2,27	0,27 0,920	3,02	0,13 0,240	0,50	0,26 0,008788	3,85	1,13 18,930
3,54	0,31 5,290	4,69	0,13 0,910	0,78	0,21 0,017579	4,74	1,32 39,150
						5,73	1,57 80,930
						8,13	2,46 399,990

T A B L A V

Variación de la mortalidad en huevos de Ceratitidis capitata (Wied.) con diferentes soluciones de CLL1 ( $\overline{\text{pH}}= 5,73$ ).

<u>%o</u>	<u><math>\pi</math></u>	<u>C</u>	<u>m</u>	<u>am</u>	<u>Huevos puestos</u>	<u>Mortalidad (%)</u>	<u>Mortalida corregida</u>
20,00	22,152	0,47	0,48	0,13	450	12,67	7,55
40,00	46,701	0,94	0,98	0,57	650	22,77	18,24
60,00	74,460	1,41	1,46	1,47	450	33,11	29,19
80,00	106,034	1,89	2,05	3,63	650	47,69	44,62
100,00	142,028	2,36	2,62	7,57	450	59,78	57,42
120,00	183,047	2,83	3,21	15,09	650	80,15	78,98
140,00	229,696	3,30	3,84	30,58	450	93,11	92,70
160,00	282,579	3,77	4,49	61,04	650	99,62	99,60
Control (H <sub>2</sub> O)	.....	.....	.....	.....	650	5,54	---

T A B L A V (Continuación)

Cl Na ( $\overline{\text{pH}}= 5,79$ )

$\%$	$\pi$	C	m	a m	Huevos puestos	Mortalidad (%)	Mortalidad corregida (%)
120,00	100,426	2,05	2,33	2,51	650	16,16	12,24
160,00	142,813	2,74	3,26	5,51	650	19,08	15,29
180,00	165,786	3,08	3,75	8,34	650	44,31	41,70
200,00	189,946	3,42	4,28	12,02	650	60,62	58,78
220,00	215,292	3,76	4,82	17,18	600	73,00	71,74
240,00	241,824	4,11	5,40	24,68	500	88,40	87,86
280,00	298,448	4,79	6,65	52,54	650	95,08	94,85
Control (H <sub>2</sub> O)	.....	.....	.....	.....	650	4,47	---

T A B L A V (Continuación)

Cl K ( $\overline{pH} = 6,84$ )

<u>%o</u>	<u><math>\pi</math></u>	<u>C</u>	<u>m</u>	<u>am</u>	<u>Huevos puestos</u>	<u>Mortalidad (%)</u>	<u>Mortalidad corregida (%)</u>
40,00	23,273	0,54	0,56	0,13	600	6,84	2,61
80,00	46,932	1,07	1,16	0,47	600	10,67	6,62
120,00	71,730	1,61	1,83	1,09	600	10,17	6,09
160,00	97,668	2,15	2,55	2,11	600	19,67	16,02
200,00	124,745	2,68	3,35	3,65	600	40,00	37,28
240,00	152,961	3,22	4,23	6,02	400	54,75	52,70
Control (H <sub>2</sub> O) .....					600	4,34	---

T A B L A V (Continuación)

$\text{Cl}_2$  Ca ( $\bar{\text{pH}}= 8,26$ )

<u>%o</u>	<u><math>\Pi</math></u>	<u>N</u>	<u>C</u>	<u>m</u>	<u>am</u>	Huevos puestos	Mortalidad (%)	Mortalidad corregida (%)
80,00	46,510	1,44	0,72	0,78	0,20	450	9,34	3,78
120,00	84,289	2,16	1,08	1,23	1,17	450	10,67	5,19
160,00	135,240	2,88	1,44	1,71	6,02	450	22,00	17,21
200,00	199,361	3,60	1,80	2,25	45,56	450	38,89	35,14
240,00	276,654	4,32	2,16	2,84	225,43	450	76,00	74,53
280,00	367,118	5,04	2,52	3,50	1543,31	250	92,40	91,93
Control ( $\text{H}_2\text{O}$ ).....						450	5,78	---

ca aparece con mayor efecto letal, el cloruro de litio en primer lugar seguido del potásico, sódico y cálcico lo que en principio parece no estar de acuerdo con lo dicho anteriormente. Sin embargo hemos de hacer constar que, como ya se explicó en el capítulo de Material y métodos, la presión osmótica es función de la concentración de la solución, y del factor de Van't Hoff, que a su vez depende del coeficiente osmótico y del nº de iones en que se disocia el electrolito. Lógicamente en el caso, por ejemplo del  $\text{Cl}_2\text{Ca}$ , para una concentración molal determinada la presión osmótica correspondiente ha de ser mucho mayor que en los demás, por ser muy superior el valor de 3 al disociarse en tres iones en lugar de 2. (Ver TABLA I).

Para las demás unidades de concentración, al ser funciones del peso molecular del compuesto, fijando un determinado % en la sal, serán menos concentradas en cuanto a su normalidad, molaridad y molalidad las de mayor peso molecular, por lo que aparentemente los efectos tóxicos se invierten respecto a lo que se comentó cuando hemos considerado como unidad de concentración el %. (Figs. 5, 6 y 7 ).

Estas consideraciones es necesario tenerlas en cuenta para la correcta interpretación de las gráficas puesto que si no es así se deducirían conclusiones erróneas.

Resumiremos, entonces, que para este primer grupo de electrolitos, el orden de toxicidad es  $\text{ClLi} > \text{ClNa} > \text{Cl}_2\text{Ca} > \text{ClK}$ .

Comentamos antes que se incluyen las actividades molales, puesto que en realidad es necesario tener presente que los

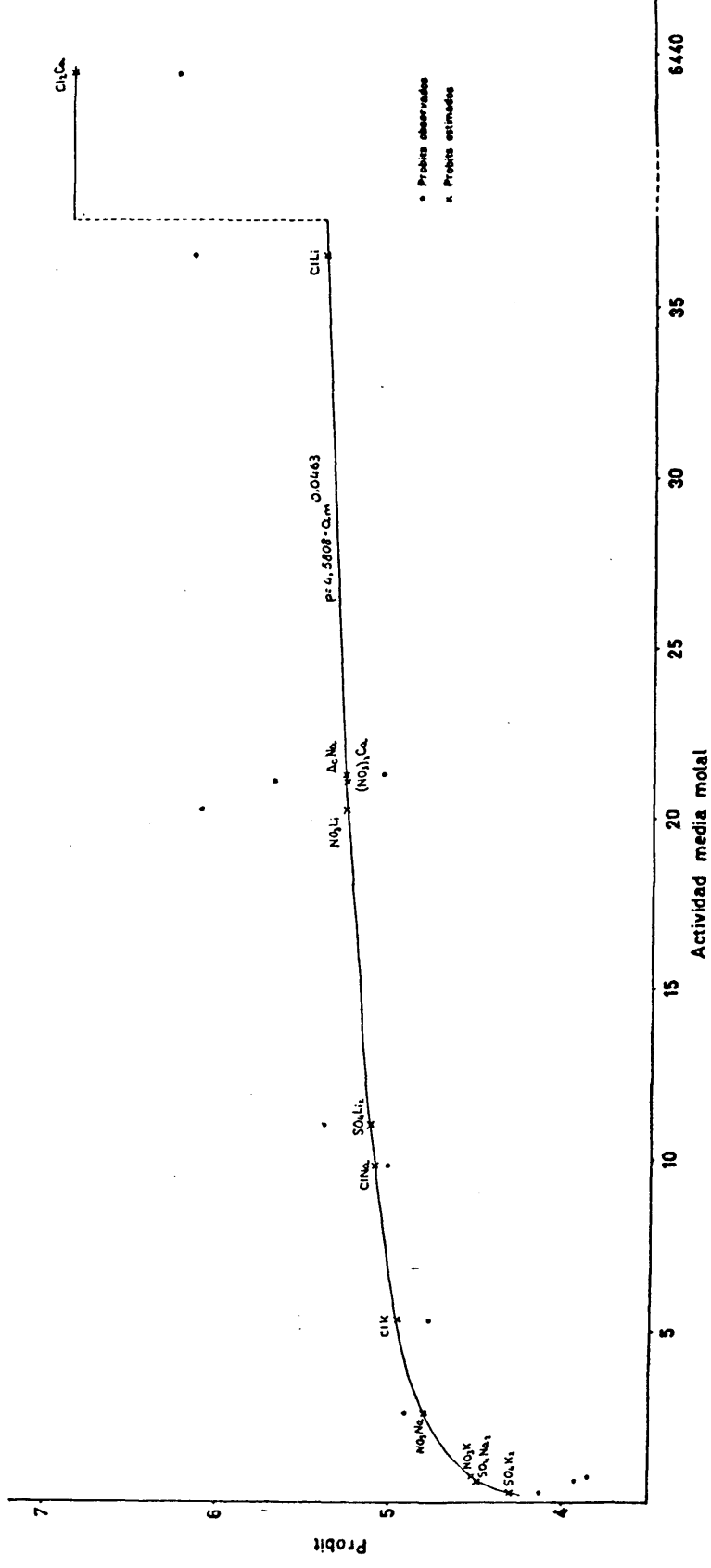
electrolitos en solución no se comparten con arreglo a la concentración de ésta, sino de acuerdo con su actividad química, - concepto mucho más exacto ya que tiene en cuenta los procesos - de interacción iónica, etc. Pues bien, de acuerdo con los valores de la actividad media molal, el orden de toxicidad es  $K^+ > Li^+ > Na^+ > Ca^{++}$  (Fig. 8) ya que, según se observa en las gráficas de la Fig. 2, el  $ClK$  es el que presenta menores valores  $\epsilon$  del coeficiente de actividad según la concentración molal y el  $Cl_2Ca$  los mayores y, además, en este último caso la actividad - es función de una potencia cúbica de la concentración molal y - del coeficiente, mientras que en los demás lo es del cuadrado.

Posteriormente se estudió el efecto del grupo de nitratos  $NO_3Li$ ;  $NO_3Na$ ;  $NO_3K$ ;  $(NO_3)_2Ca$ . (TABLA VI). Cuando nos referimos a concentraciones en % aparece como más letal el nitrato de litio seguido del de sodio, calcio y potasio (Fig. 3). En el caso del nitrato de litio llega a obtenerse un 100 % de mortalidad con una concentración del 24 %, lo que no ocurre en los demás aún utilizando dosis muy superiores. (Con  $NO_3Na$  se consigue un 85 % con dosis del 40 % y con  $(NO_3)_2Ca$  se alcanza el 95%, pero a niveles del 48 %).

El Nitrato potásico muestra un efecto tóxico muy pequeño a las concentraciones utilizadas, que sólo han podido alcanzar un máximo del 20 % por no ser más soluble el producto utilizado. Este mismo comentario es válido para la columna de -- presión osmótica, y en cuanto a las demás unidades de concentración ocurre que, cuando se trata de normalidad, el orden es --

Fig. 8

Variación de la mortalidad corregida en huevos de Ceratitidis capitata (Wied.) con la actividad molar de soluciones de diferentes productos químicos.



T A B L A VI

Variación de la mortalidad en huevos de Ceratitidis capitata (Wied.) con diferentes soluciones de  $\text{NO}_3\text{Li}$  ( $\overline{\text{pH}} = 5,74$ ).

<u>%</u>	<u><math>\Pi</math></u>	<u>C</u>	<u>m</u>	<u><math>a_m</math></u>	<u>Huevos puestos</u>	<u>Mortalidad (%)</u>	<u>Mortalidad corregida (%)</u>
40,00	27,073	0,58	0,60	0,19	400	27,00	22,95
80,00	57,575	1,16	1,26	0,92	400	37,25	33,77
120,00	92,544	1,74	1,98	2,70	400	49,75	46,96
160,00	131,981	2,32	2,76	6,73	400	72,50	70,98
200,00	175,884	2,90	3,62	14,45	400	91,00	90,50
240,00	224,255	3,48	4,58	31,22	250	100,00	100,00
Control ( $\text{H}_2\text{O}$ ) .....					400	5,25	---

T A B L A VI (Continuación)

%	NO <sub>3</sub> Na (pH= 5,70)				Huevos puestos	Mortalidad (%)	Mortalidad corregida (%)
	π	C	m	am			
40,00	20,034	0,47	0,49	0,09	350	10,00	4,51
80,00	39,059	0,94	1,02	0,31	650	8,16	2,56
120,00	57,608	1,41	1,60	0,61	650	12,31	6,96
160,00	75,679	1,88	2,24	1,06	650	22,47	17,74
200,00	93,274	2,35	2,94	1,67	650	30,47	26,23
240,00	110,392	2,82	3,71	2,43	450	43,78	40,35
320,00	143,198	3,76	5,53	4,41	450	68,45	66,52
400,00	174,096	4,70	7,84	7,53	450	86,00	85,14
	Control (H <sub>2</sub> O) .....				800	5,75	----

T A B L A VI (Continuación)

$\text{NO}_3\text{K}$  ( $\overline{\text{pH}} = 5,96$ )

<u>‰</u>	<u><math>\Pi</math></u>	<u>C</u>	<u>m</u>	<u><math>a_m</math></u>	<u>Huevos puestos</u>	<u>Mortalidad (%)</u>	<u>Mortalidad corregida (%)</u>
40,00	15,878	0,39	0,41	0,05	500	11,60	7,34
80,00	29,653	0,79	0,86	0,16	500	9,60	5,24
120,00	41,853	1,19	1,35	0,28	500	14,40	10,27
160,00	52,481	1,58	1,88	0,41	500	14,60	10,48
200,00	61,534	1,98	2,47	0,55	100	15,00	10,90
Control ( $\text{H}_2\text{O}$ ) .....					500	4,60	---

T A B L A VI (Continuación)

$(NO_3)_2$  Ca ( $\overline{pH}$  = 4,46)

<u>%o</u>	<u><math>\pi</math></u>	<u>N</u>	<u>C</u>	<u>m</u>	<u>am</u>	<u>Huevos puestos</u>	<u>Mortalidad (%)</u>	<u>Mortalidad corregida Mo (%)</u>
80,00	28,427	0,97	0,49	0,53	0,03	650	13,69	8,33
160,00	61,438	1,95	0,97	1,16	0,22	650	18,92	13,88
240,00	101,873	2,92	1,46	1,92	1,12	450	32,89	28,72
320,00	149,732	3,90	1,95	2,87	5,19	450	56,22	53,50
400,00	205,016	4,87	2,44	4,06	15,58	450	82,89	81,83
480,00	267,723	5,85	2,92	5,62	124,68	400	95,50	95,22
	Control (H <sub>2</sub> O) .....					650	5,85	---

$\text{NO}_3\text{Li} > \text{NO}_3\text{Na} > (\text{NO}_3)_2\text{Ca} > \text{NO}_3\text{K}$  es decir, igual que antes, pero si nos referimos a molaridad es  $(\text{NO}_3)_2\text{Ca} > \text{NO}_3\text{Li} > \text{NO}_3\text{Na} > \text{NO}_3\text{K}$  puesto que al ser el  $P_m$  del nitrato cálcico muy superior al de los demás, su molaridad es menor; para la molalidad ocurre igual. En cuanto a la actividad, vemos que los coeficientes son mayores en el  $\text{NO}_3\text{Li}$  que en los demás; sigue el  $\text{NO}_3\text{Na}$  y  $(\text{NO}_3)_2\text{Ca}$ , (mayores los del  $\text{NO}_3\text{Na}$  a bajas concentraciones y menores a más altas), siendo los del  $\text{NO}_3\text{K}$  los de menor valor. Entonces, lógicamente, fijado un nivel de mortalidad determinado, le corresponderá una actividad menor en el  $\text{NO}_3\text{K}$ ; además, y según puede apreciarse en la Fig. 2, en el caso de los nitratos de sodio y potasio, al aumentar la concentración, disminuye el coeficiente, mientras que en los demás, primero decrece para después aumentar.

Pasamos después a ensayar los sulfatos de litio, sodio y potasio, excluyendo el de calcio por su escasísima solubilidad. Basta observar la TABLA VII y las gráficas de las Figs. 3, 5, 6, 7 y 8 para deducir inmediatamente que las diferencias en cuanto a toxicidad son enormes, siendo el orden  $\text{SO}_4\text{Li}_2 > \text{SO}_4\text{K}_2 > \text{SO}_4\text{Na}_2$  puesto que en el primer caso, para una concentración del 12 % ya se obtiene una mortalidad del 17 % mientras que en el  $\text{SO}_4\text{K}_2$  es del 11 % y en el de sodio es del 5 %. Cuando se alcanza el nivel del 28 % de concentración en la sal, la mortalidad es del 77 % en  $\text{SO}_4\text{Li}_2$ , mientras que en el  $\text{SO}_4\text{Na}_2$  no llega a ser del 14 %.

Respecto a las demás escalas, el orden no se altera -

T A B L A VII

Variación de la mortalidad en huevos de Ceratitidis capitata (Wied.) con diferentes soluciones de  $SO_4 Li_2$  ( $\overline{pH} = 5,58$ ).

<u>%o</u>	<u>N</u>	<u>C</u>	<u>m</u>	<u>a<sub>m</sub></u>	<u>Huevos puestos</u>	<u>Mortalidad (%)</u>	<u>Mortalidad corregida (%)</u>
40,00	0,73	0,36	0,38	0,01	450	13,33	9,92
80,00	1,45	0,73	0,79	0,05	450	14,22	10,85
120,00	2,18	1,09	1,24	0,15	450	20,67	17,55
160,00	2,91	1,45	1,73	0,36	450	29,11	26,32
200,00	3,64	1,82	2,27	0,92	450	44,45	42,27
280,00	5,09	2,55	3,54	5,29	350	78,57	77,23
Control ( $H_2O$ ) .....					450	3,78	---

T A B L A VII (Continuación)

%	SO <sub>4</sub> Na <sub>2</sub> (pH= 5,27)					Huevos puestas	Mortalidad (%)	Mortalidad corregida (%)
	Π	N	C	m	a <sub>m</sub>			
80,00	27,936	1,13	0,56	0,61	0,01	400	7,25	0,80
120,00	40,470	1,69	0,84	0,96	0,03	400	11,25	5,08
160,00	52,696	2,25	1,13	1,34	0,05	400	12,25	6,15
200,00	64,885	2,82	1,41	1,76	0,09	400	42,25	6,15
300,00	96,952	4,22	2,11	3,02	0,24	400	20,00	14,44
400,00	134,659	5,63	2,82	4,69	0,91	400	19,00	13,37
	Control (H <sub>2</sub> O) .....					400	6,50	---

T A B L A VII (Continuación)

SO<sub>4</sub> K<sub>2</sub> (pH= 6,58)

<u>%</u>	<u>π</u>	<u>N</u>	<u>C</u>	<u>m</u>	<u>a m</u>	<u>Huevos puestos</u>	<u>Mortalidad (%)</u>	<u>Mortalidad corregida (%)</u>
5,00	2,216	0,06	0,03	0,03	0,000015	400	9,75	3,99
10,00	3,698	0,11	0,06	0,06	0,000095	400	11,50	5,85
20,00	6,623	0,23	0,11	0,12	0,000476	400	14,25	8,78
40,00	12,317	0,46	0,23	0,24	0,002173	400	15,25	9,84
80,00	23,275	0,92	0,46	0,50	0,008788	400	17,75	12,50
120,00	33,938	1,38	0,69	0,78	0,017579	400	16,25	10,90
Control (H <sub>2</sub> O)	.....	.....	.....	.....	.....	400	6,00	----

puesto que no existen discrepancias tan considerables como antes en los pesos moleculares.

Debido a los valores tan bajos de los coeficientes de actividad en el  $\text{SO}_4\text{K}_2$ , aparece como más tóxico éste, tomando como base las actividades.

En las TABLAS VIII, IX y X se incluyen los datos de mortalidad correspondientes a soluciones de carbonato sódico, acetato sódico y urea y se observa, que el orden de toxicidad es  $\text{CO}_3\text{Na} > \text{AcNa} > \text{Urea}$ , de acuerdo con el carácter no iónico de la urea. (Figs. 6 y 7).

A través de esta serie de comentarios a los resultados experimentales observados, deducimos que las soluciones de electrolitos estudiados producen toxicidad superior que las de glucosa y urea (no electrolitos).

Posteriormente se pasó a considerar el interés del estudio de la influencia del pH en la eclosión de los huevos del insecto, para lo que se procedió a preparar soluciones de los electrolitos ajustándolas aproximadamente a  $\overline{\text{pH}}$ s 1, 4, 10 y 12, con el fin de tener conocimiento de tal efecto en la zona ácida y alcalina, puesto que las soluciones neutras ó próximas a la neutralidad son las que hasta aquí hemos comentado.

Para el cloruro de litio se obtuvieron  $\overline{\text{pH}}$ s medios de 0,96 , 4,00 , 10,37 y 12,55. Los resultados experimentales son los que aparecen en la TABLA XI que hemos resumido en la XII y representado gráficamente en la Fig. 9. Observamos que, en general, las soluciones que presentan  $\overline{\text{pH}}$  muy ácido ó muy alcalino

T A B L A VIII

Variación de la mortalidad en huevos de Ceratitls capitata (Wied.) con diferentes soluciones de  $\text{CO}_3 \text{Na}_2$  ( $\overline{\text{pH}}= 11,49$ ).

<u>‰</u>	<u>N</u>	<u>C</u>	<u>m</u>	<u>Huevos puestas</u>	<u>Mortalidad (%)</u>	<u>Mortalidad corregida (%)</u>
20,00	0,38	0,19	0,19	450	6,89	2,05
40,00	0,75	0,38	0,39	700	13,29	8,78
60,00	1,13	0,57	0,60	450	22,67	18,65
80,00	1,51	0,75	0,82	750	25,87	22,02
160,00	3,02	1,51	1,80	550	36,36	33,05
200,00	3,77	1,89	2,36	300	50,67	48,11
Control ( $\text{H}_2\text{O}$ ) .....				750	4,94	---

T A B L A IX

Variación de la mortalidad en huevos de *Ceratitidis capitata* (Wied.) con diferentes soluciones de Ac Na (pH. 9,26).

<u>‰</u>	<u>π</u>	<u>C</u>	<u>m</u>	<u>a<sub>m</sub></u>	Huevos puestos	<u>Mortalidad (%)</u>	<u>Mortalidad corregida (%)</u>
80,00	47,810	0,97	1,06	0,67	550	9,10	4,03
120,00	75,930	1,46	1,66	1,85	550	10,37	5,37
160,00	107,048	1,95	2,32	4,26	550	16,00	11,32
200,00	141,236	2,44	3,05	9,12	550	31,28	27,45
240,00	178,468	2,92	3,85	18,93	550	42,19	38,97
280,00	218,743	3,41	4,74	39,15	250	80,00	78,88
320,00	262,061	3,90	5,73	80,93	500	86,20	85,43
400,00	357,826	4,88	8,13	399,99	200	100,00	100,00
Control (H <sub>2</sub> O)	.....	.....	.....	.....	550	5,28	---

T A B L A X

Variación de la mortalidad en huevos de Ceratitidis capitata (Wied.) con diferentes soluciones de Urea ( $\overline{\text{pH}}= 8,49$ ).

<u>‰</u>	<u><math>\Pi</math> (*)</u>	<u>C</u>	<u>m</u>	<u>Huevos puestos</u>	<u>Mortalidad (\$)</u>	<u>Mortalidad corregida (%)</u>
80,00	32,500	1,33	1,45	650	6,47	1,62
160,00	65,000	2,66	3,17	600	11,00	6,38
240,00	97,744	4,00	5,26	600	24,50	20,58
320,00	130,244	5,33	7,83	600	60,17	58,10
400,00	162,744	6,66	11,10	400	85,25	84,48
480,00	195,244	7,99	15,37	400	96,75	96,58
Control (H <sub>2</sub> O) .....				650	4,93	----

(\*) Los valores de  $\Pi$  que se observan en esta tabla se han calculado de forma teórica al no haberse encontrado datos experimentales en la bibliografía.

T A B L A XI

Mortalidad en huevos de Ceratitis capitata (Wied.) con diferentes soluciones de Cl Li ( $\overline{\text{pH}} = 0,96$ ).

<u>m</u>	<u>Huevos puestos</u>	<u>Mortalidad (%)</u>	<u>Mortalidad corregida (%)</u>
0,98	550	20,55	15,47
1,50	400	22,00	17,02
2,05	550	44,36	40,81
2,62	400	64,75	62,50
3,21	400	82,75	81,65
4,49	400	100,00	99,99
Control (H <sub>2</sub> O)	550	6,00	---
Cl Li ( $\overline{\text{pH}} = 4,00$ )			
0,98	450	15,12	9,48
2,05	450	38,00	33,89
2,62	300	53,67	50,92
3,21	450	67,78	65,64
3,84	300	97,34	97,16
4,49	450	99,34	99,29
Control (H <sub>2</sub> O)	450	6,23	---

T A B L A XI (Continuación)

Cl Li ( $\overline{\text{pH}}=10,37$ )

<u>m</u>	<u>Huevos puestos</u>	<u>Mortalidad (%)</u>	<u>Mortalidad corregida (%)</u>
0,24	550	15,46	11,00
0,48	550	24,00	20,00
0,98	600	26,50	22,63
2,05	600	43,67	40,70
3,21	600	85,00	84,21
4,49	350	99,72	99,40
Control (H <sub>2</sub> O)	600	5,00	---

Cl Li ( $\overline{\text{pH}}=12,55$ )

0,06	500	61,60	59,65
0,12	500	67,80	66,17
0,24	600	68,17	66,55
0,48	600	86,33	85,64
0,98	600	95,83	95,62
2,05	600	100,00	99,99
Control (H <sub>2</sub> O)	850	4,82	---

T A B L A XII

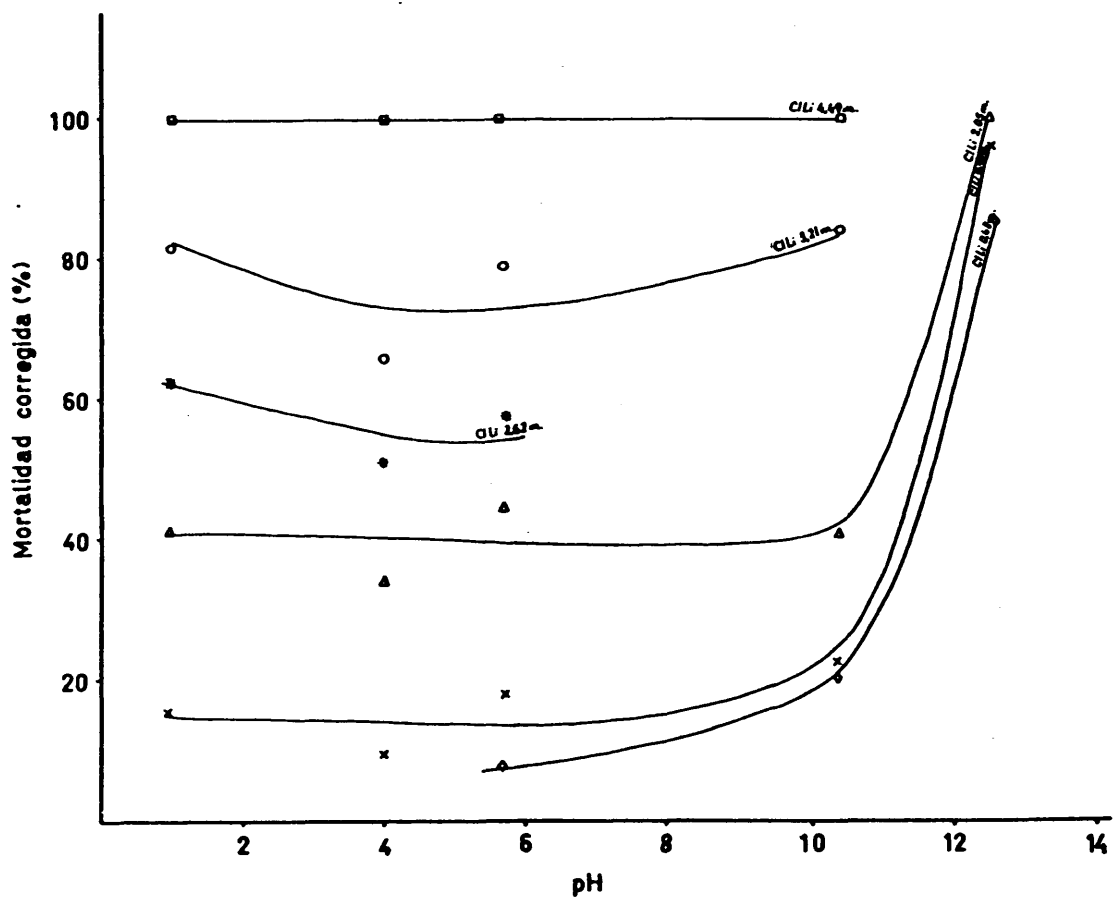
Mortalidad corregida (%) en huevos de Ceratitidis capitata (Wied.) en función del pH  
medio de distintas soluciones de electrolitos.

Cl L1

m pH	0,24	0,48	0,98	2,05	2,62	3,21	4,49
0,96	---	---	15,47	40,81	62,50	81,65	99,99
4,00	---	---	9,48	33,89	50,92	65,64	99,29
5,73	---	7,55	18,24	44,62	57,42	78,98	99,60
10,37	11,00	20,00	22,63	40,70	---	84,21	99,40
12,55	66,55	85,64	95,62	99,99	---	---	---

Fig. 9

Variación de la mortalidad corregida en huevos de Ceratitis capitata (Wied.) con el pH de diferentes soluciones de Cloruro de litio.



son las más tóxicas, siéndolo más estas últimas, lo que es comprensible si tenemos en cuenta que normalmente el huevo es puesto en el interior de las frutas cuando éstas presentan un grado de acidez del orden de 4 ó incluso menor; lógicamente, si las concentraciones son elevadas, el salto en la toxicidad no es tan acusado, puesto que de por sí, el producto ejerce un efecto letal elevado.

Con  $\text{ClNa}$ , se obtuvieron pHs medios, ( $\overline{\text{pH}}$ ), de 1,02; --- 4,01; 10,66 y 12,78, y los resultados (TABLAS XIII y XIV y Fig. 10), muestran que el efecto es análogo al del  $\text{ClLi}$ , obteniéndose niveles de mortalidad menores para concentraciones más altas que con éste, pues ya comentamos que el cloruro de litio es más tóxico, pero lo que interesa hacer constar es que el comportamiento en sí es paralelo, con efectos letales más acusados en las zonas de  $\overline{\text{pH}}$  ácido y alcalino y tanto más acusado cuanto más alto es aquél.

En el  $\text{ClK}$ , de los cloruros utilizados el menos soluble, se alcanzan valores de mortalidad relativamente bajos, (TABLAS XV y XVI y Fig. 11), a pesar de que se ensayaron disoluciones también muy alcalinas, pero no se pudieron preparar más concentradas del 24 %. Con  $\text{Cl}_2\text{Ca}$  sólo pudieron prepararse soluciones en la zona ácida ( $\overline{\text{pH}}$  0,99 y 4,09) y no en la alcalina, como ya comentamos, exceptuando la que se utilizó con la sal sólo ( $\overline{\text{pH}}$  - 8,26).

Observamos (TABLAS XVII y XVIII y Fig. 12), que para todas las concentraciones, el cambio en los índices de mortali-

T A B L A    X I I I

---

Mortalidad en huevos de Ceratitis capitata (Wied.) con diferentes soluciones de Cl Na ( $\overline{\text{pH}} = 1,02$ ).

<u>m</u>	<u>Huevos puestos</u>	<u>Mortalidad (%)</u>	<u>Mortalidad corregida (%)</u>
2,33	550	23,46	17,29
2,78	350	32,29	26,83
3,26	550	46,36	42,04
3,75	350	68,57	66,04
4,28	550	69,27	66,80
4,82	350	86,86	85,80
5,40	550	92,18	91,55
6,65	550	97,82	97,64
Control (H <sub>2</sub> O)	550	7,46	---

Cl Na ( $\overline{\text{pH}} = 4,01$ )

0,35	350	4,86	2,35
0,71	350	5,15	2,64
1,49	350	8,86	6,45
2,33	350	24,29	22,29
4,28	350	38,29	36,66
6,65	350	78,57	78,00
Control (H <sub>2</sub> O)	350	2,57	----

T A B L A   X I V

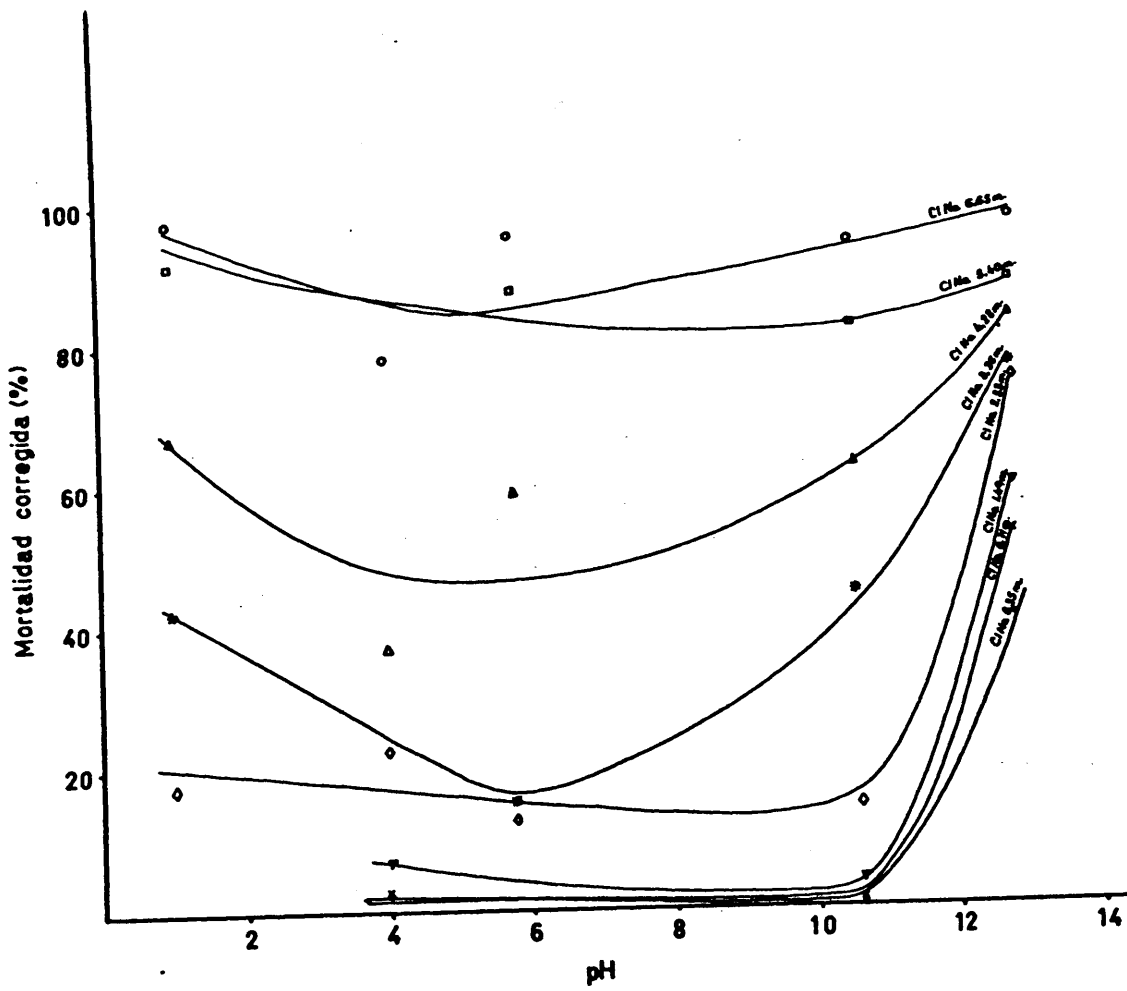
Mortalidad corregida (%) en huevos de Ceratitidis capitata (Wied.) en función del pH medio de distintas soluciones de electrolitos.

Cl Na

m pH	0,35	0,71	1,49	2,33	3,26	4,28	5,40	6,65
1,02	---	---	---	17,29	42,04	66,80	91,55	97,64
4,01	2,35	2,64	6,45	22,29	---	36,66	---	78,00
5,79	---	---	---	12,24	15,29	58,78	87,86	94,85
10,66	0,00	0,79	3,45	14,38	44,49	62,50	81,99	94,09
12,78	40,21	52,89	59,62	74,23	76,30	83,20	88,27	96,55

Fig. 10

Variación de la mortalidad corregida, en huevos de Ceratitis capitata (Wied.) con el pH de diferentes soluciones de Cloruro sódico.



T A B L A    X V

---

Mortalidad en huevos de Ceratitis capitata (Wied.) con diferentes soluciones de Cl K ( $\overline{\text{pH}} = 1,21$ ).

<u>m</u>	<u>Huevos puestos</u>	<u>Mortalidad (%)</u>	<u>Mortalidad corregida (%)</u>
0,56	400	6,25	0,53
1,16	400	12,75	7,43
1,83	400	16,00	10,87
2,55	400	25,75	21,22
3,35	400	37,00	33,16
4,23	400	49,50	46,42
Control (H <sub>2</sub> O)	400	5,75	---

Cl K ( $\overline{\text{pH}} = 4,22$ )

0,56	350	7,14	3,27
1,16	350	4,86	0,89
1,83	350	9,14	5,36
2,55	350	21,43	18,15
3,35	350	33,14	30,36
4,23	350	60,29	58,63
Control (H <sub>2</sub> O)	350	4,00	---

T A B L A XV (Continuación)

C1 K ( $\overline{\text{pH}} = 10,00$ )

<u>m</u>	<u>Huevos puestos</u>	<u>Mortalidad (%)</u>	<u>Mortalidad corregida (%)</u>
0,56	350	6,57	2,68
1,16	350	12,57	8,93
1,83	350	11,14	7,44
2,55	350	26,57	23,51
3,35	350	28,00	25,00
4,23	350	61,43	59,82
Control (H <sub>2</sub> O)	350	4,00	---

C1 K ( $\overline{\text{pH}} = 12,00$ )

0,56	400	7,00	3,12
1,16	400	9,75	5,99
1,83	400	12,50	8,85
2,55	400	18,75	15,36
3,35	400	43,00	40,62
4,23	300	53,67	51,74
Control (H <sub>2</sub> O)	450	4,00	----

T A B L A XVI

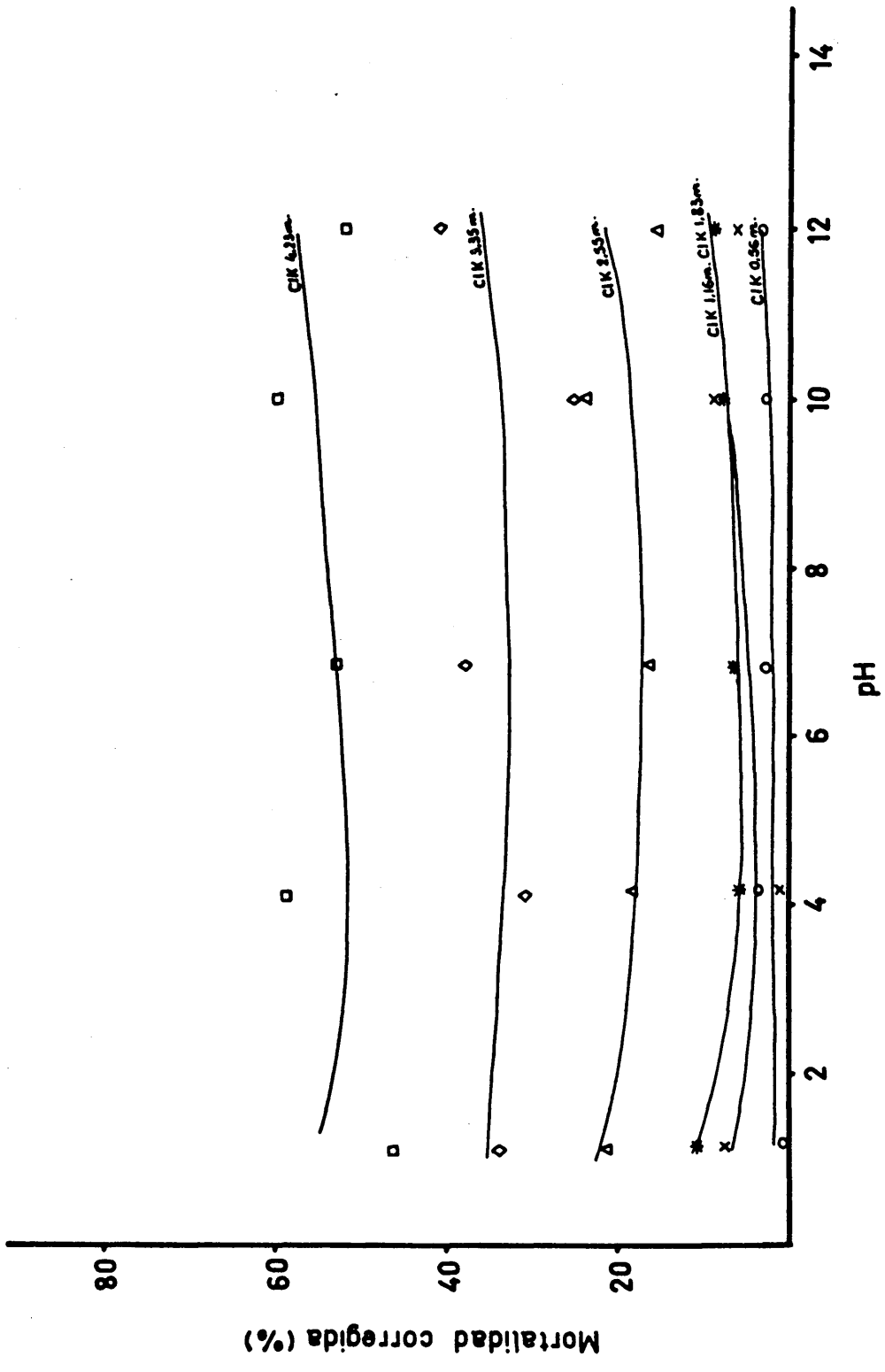
Mortalidad corregida (%) en huevos de Ceratitidis capitata (Wied.) en función del pH medio de distintas soluciones de electrolitos.

Cl K

$\overline{\text{pH}}$	m	0,56	1,16	1,83	2,55	3,35	4,23
1,21		0,53	7,43	10,87	21,22	33,16	46,42
4,22		3,27	0,89	5,36	18,15	30,36	58,63
6,84		2,61	6,62	6,09	16,02	37,28	52,70
10,00		2,68	8,93	7,44	23,51	25,00	59,82
12,00		3,12	5,99	8,85	15,36	40,62	51,74

Fig. 11

Variación de la mortalidad corregida en huevos de Ceratitis capitata (Wied.)  
con el  $\overline{\text{pH}}$  de diferentes soluciones de Cloruro potásico.



## T A B L A    X V I I

Mortalidad en huevos de Ceratitidis capitata (Wied.) con diferentes soluciones de  $\text{Cl}_2 \text{ Ca}$  ( $\overline{\text{pH}} = 0,99$ ).

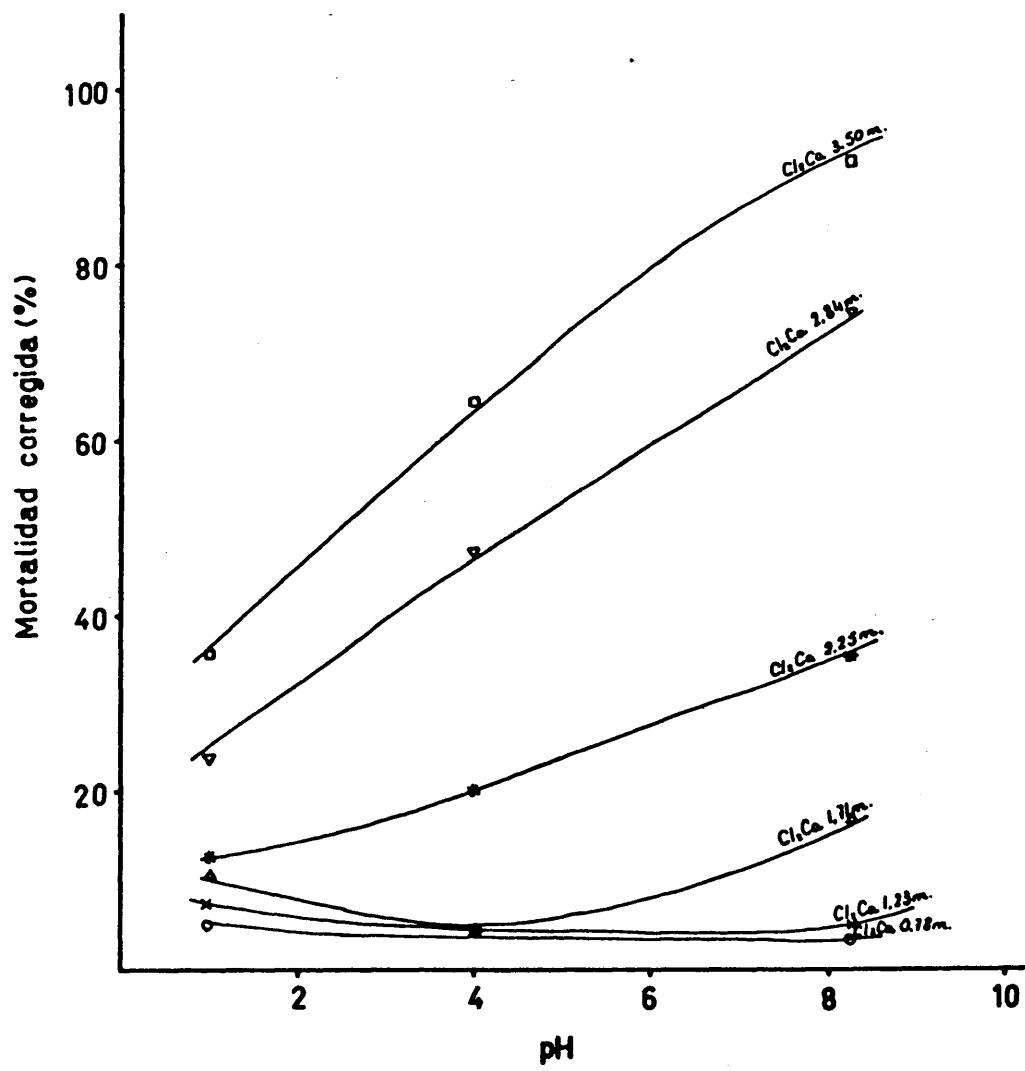
<u>m</u>	<u>Huevos puestos</u>	<u>Mortalidad (%)</u>	<u>Mortalidad corregida (%)</u>
0,78	400	10,25	5,28
1,23	400	12,25	7,39
1,71	400	15,25	10,55
2,25	400	17,25	12,66
2,84	400	28,00	24,01
3,50	400	39,25	35,88
Control ( $\text{H}_2\text{O}$ )	400	5,25	---

$\text{Cl}_2 \text{ Ca}$  ( $\overline{\text{pH}} = 4,09$ ).

0,78	400	9,50	3,72
1,23	400	10,00	4,25
1,71	400	10,00	4,25
2,25	400	24,75	19,95
2,84	400	50,50	47,34
3,50	400	66,50	64,36
Control ( $\text{H}_2\text{O}$ )	400	6,00	---

Fig. 12

Variación de la mortalidad corregida en huevos de Ceratitis capitata (Wied.) con el pH de diferentes soluciones de Cloruro cálcico.



dad es muy brusco en cuanto se entra en la zona alcalina, y lógicamente mayor cuando se consideran concentraciones elevadas.

Resumimos, pues, este primer grupo de cloruros, significando que el  $\overline{\text{pH}}$  influye notablemente en la eclosión, de forma que se observa un rápido aumento en la mortalidad cuando se somete a los huevos a un medio muy ácido ó alcalino, siendo aquélla mucho más acusada en la zona de  $\overline{\text{pH}}$  elevado.

A continuación se prepararon soluciones de nitratos - de litio, sodio, potasio y calcio, siguiendo la misma línea que con los cloruros.

El nitrato de litio muestra una diferencia acusada de toxicidad con el  $\overline{\text{pH}}$  sólo cuando se consideran soluciones muy alcalinas ( $\overline{\text{pH}}$  12,27), puesto que en los demás casos permanece invariable prácticamente (TABLAS XIX y XX y Fig. 13). Es digno de mencionar el hecho de que basta una concentración de 1,26 molal (8 %) para producir mortalidades que varían desde aproximadamente el 30 % con soluciones de  $\overline{\text{pH}}$  1,03 , 3,97 , 5,74 y 10,19 hasta casi el 100 % cuando se utilizan soluciones de  $\overline{\text{pH}}$  12,27; como es lógico, tales diferencias se hacen menores a medida que la concentración aumenta.

Con el nitrato sódico es necesario utilizar niveles - de concentración más altos para obtener porcentajes de mortalidad equivalentes a los encontrados en el caso anterior, con ---  $\overline{\text{pH}}$ s del mismo orden, (1,27 ; 3,92 ; 5,70 ; 10,55 y 12,63), lo - que indica su menor acción tóxica como ya se comentó antes; también hemos de señalar que sólo a  $\overline{\text{pH}}$  muy alcalino es cuando la -

T A B L A    X I X

---

Mortalidad en huevos de Ceratitis capitata (Wied.) con diferentes soluciones de  $\text{NO}_3\text{Li}$  ( $\overline{\text{pH}} = 1,03$ ).

<u>m</u>	<u>Huevos puestos</u>	<u>Mortalidad (%)</u>	<u>Mortalidad corregida (%)</u>
0,60	400	17,50	14,06
1,26	400	36,00	33,33
1,98	400	54,25	52,34
2,76	400	70,25	69,01
3,62	400	92,00	91,67
4,58	400	99,75	99,74
Control ( $\text{H}_2\text{O}$ )	400	4,00	---

$\text{NO}_3\text{Li}$  ( $\overline{\text{pH}} = 3,97$ )

0,60	400	16,00	12,04
1,26	400	25,50	21,99
1,98	400	48,75	46,33
2,76	400	71,50	70,16
3,62	400	90,00	89,53
4,58	400	97,75	97,64
Control ( $\text{H}_2\text{O}$ )	400	4,00	---

T A B L A XIX (Continuación)

$\text{NO}_3 \text{ Li } (\overline{\text{pH}} = 10,19)$

<u>m</u>	<u>Huevos puestos</u>	<u>Mortalidad (%)</u>	<u>Mortalidad corregida (%)</u>
0,60	400	22,00	19,17
1,26	400	25,50	22,80
1,98	400	46,25	44,30
2,76	400	69,00	67,87
3,62	400	86,00	85,49
4,58	400	97,00	96,89
5,64	400	100,00	99,99
Control (H <sub>2</sub> O)	400	3,50	---

$\text{NO}_3 \text{ Li } (\overline{\text{pH}} = 12,27)$

0,07	400	51,50	47,39
0,14	400	60,00	56,61
0,29	400	70,75	68,27
0,60	550	81,64	80,08
0,92 c	400	91,00	90,24
1,26	550	99,82	99,80
Control (H <sub>2</sub> O)	550	7,82	---

T A B L A XX

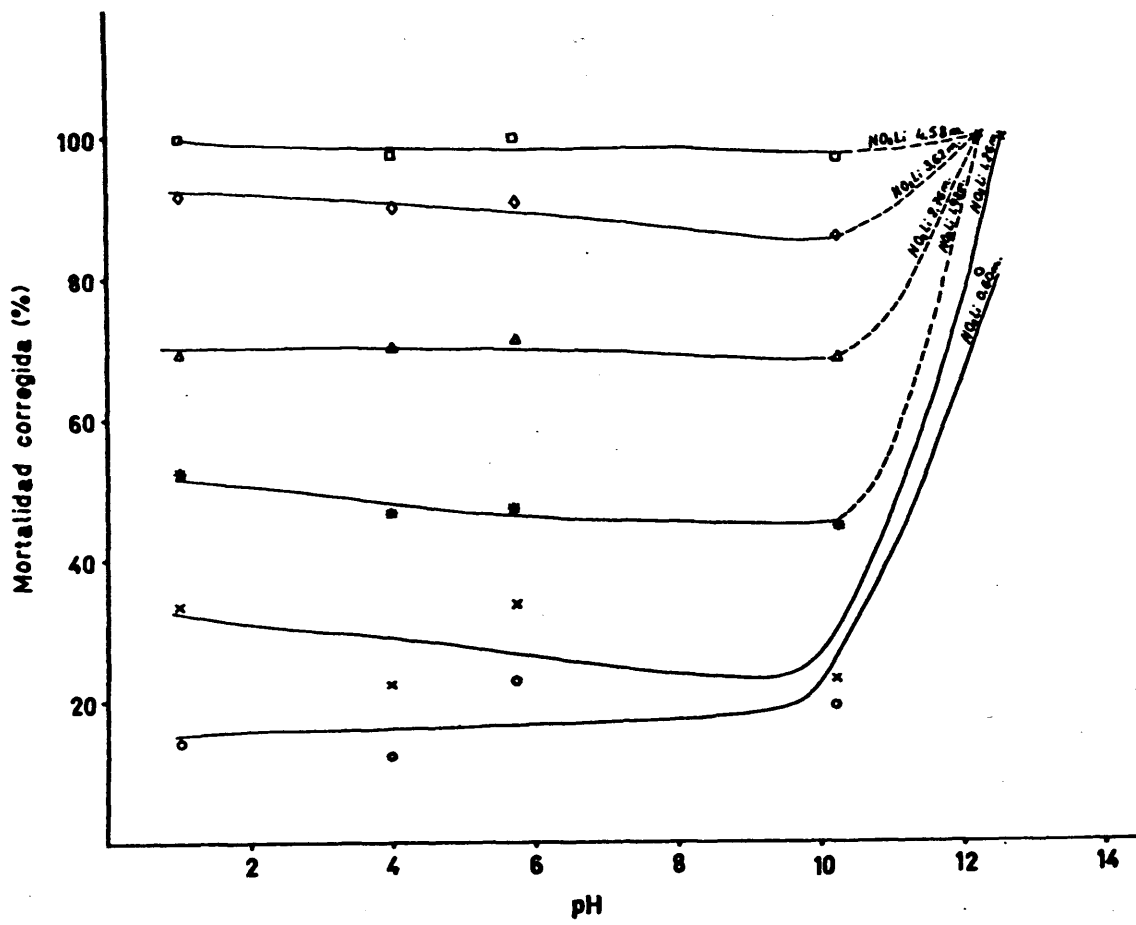
Mortalidad corregida (%) en huevos de Ceratitls capitata (Wied.) en función del pH medio de distintas soluciones de electrolitos.

NO<sub>3</sub> Li

m	0,60	1,26	1,98	2,76	3,62	4,58
1,03	14,06	33,33	52,34	69,01	91,67	99,74
3,97	12,04	21,99	46,33	70,16	89,53	97,64
5,74	22,95	33,77	46,96	70,98	90,50	100,00
10,19	19,17	22,80	44,30	67,87	85,49	96,89
12,27	80,08	99,80	---	---	---	---

Fig. 13

Variación de la mortalidad corregida en huevos de Ceratitis capitata (Wied.) con el pH de diferentes soluciones de Nitrato de litio.



mortalidad es muy elevada. (TABLAS XXI y XXII y Fig. 14).

Respecto al nitrato potásico, nos encontramos con el mismo caso que en el ClK puesto que incluso las soluciones muy alcalinas ( $\overline{\text{pH}} = 12$ ) dan valores de mortalidad francamente bajos, aunque superiores a los que se obtienen con las demás. (TABLAS XXIII y XXIV y Fig. 15).

Al preparar las soluciones de nitrato cálcico se presentó el mismo problema que con el cloruro; sólo se pudieron -- experimentar en zona ácida. Como vemos en las TABLAS XXV y XXVI y en la Fig. 16, la variación de la mortalidad con el  $\overline{\text{pH}}$  es prácticamente nula debiéndose al efecto de la sal en sí los niveles elevados que se observan.

Pasamos a continuación a realizar los mismos experimentos con sulfatos de litio, sodio y potasio, obteniéndose resultados paralelos a los descritos hasta aquí.

Las soluciones de sulfato de litio muestran acciones tóxicas muy acusadas a  $\overline{\text{pH}} 12,32$  aún a bajas concentraciones, -- mientras que, como podemos apreciar en las TABLAS XXVII y XXVIII y en la Fig. 17, aún entre diferencias de  $\overline{\text{pH}}$  desde 1,89 a 9,78, los valores de la mortalidad no son significativamente distintos en general.

Con  $\text{SO}_4\text{Na}_2$  ocurre lo mismo pero alcanzándose porcentajes de mortalidad más pequeños para  $\overline{\text{pH}}$ s semejantes, demostrándose así el menor efecto letal de este producto. Sólo con altas concentraciones y valores elevados del  $\overline{\text{pH}}$ , la mortalidad es realmente acusada aunque siempre inferior que en el  $\text{SO}_4\text{Li}_2$  (TABLAS

T A B L A    X C I

---

Mortalidad en huevos de Ceratitis capitata (Wied.) con diferentes soluciones de  $\text{NO}_3\text{Na}$  ( $\overline{\text{pH}} = 1,27$ ).

<u>m</u>	<u>Huevos puestos</u>	<u>Mortalidad (%)</u>	<u>Mortalidad corregida (%)</u>
0,49	400	9,25	5,24
1,02	450	22,45	19,01
1,60	450	22,00	18,55
2,94	450	36,67	33,86
4,59	400	67,00	65,54
6,62	400	92,00	91,65
7,84	400	93,25	92,95
Control (H <sub>2</sub> O)	850	4,24	---

$\text{NO}_3\text{Na}$  ( $\overline{\text{pH}} = 3,92$ )

1,02	400	10,00	8,16
1,60	400	20,25	18,62
2,24	400	26,75	25,25
2,94	400	38,75	37,50
3,71	400	53,25	52,29
5,04	400	80,75	80,36
7,84	400	93,00	92,86
Control (H <sub>2</sub> O)	400	2,00	---

T A B L A XXI (Continuación)

NO<sub>3</sub>Na ( $\overline{\text{pH}} = 10,55$ )

<u>m</u>	<u>Huevos puestos</u>	<u>Mortalidad (%)</u>	<u>Mortalidad corregida (%)</u>
1,02	450	8,22	4,62
1,60	450	12,67	9,24
2,24	250	24,40	21,43
2,94	450	38,89	36,49
3,71	250	57,20	55,52
5,04	450	86,00	85,45
7,84	450	93,33	93,07
Control (H <sub>2</sub> O)	450	3,78	---

NO<sub>3</sub>Na ( $\overline{\text{pH}} = 12,63$ )

0,49	400	29,75	25,66
1,02	400	42,75	39,42
1,60	400	63,00	60,85
2,94	400	76,00	74,60
4,59	400	91,25	90,74
6,62	400	100,00	99,99
Control (H <sub>2</sub> O)	400	5,50	---

T A B L A XXII

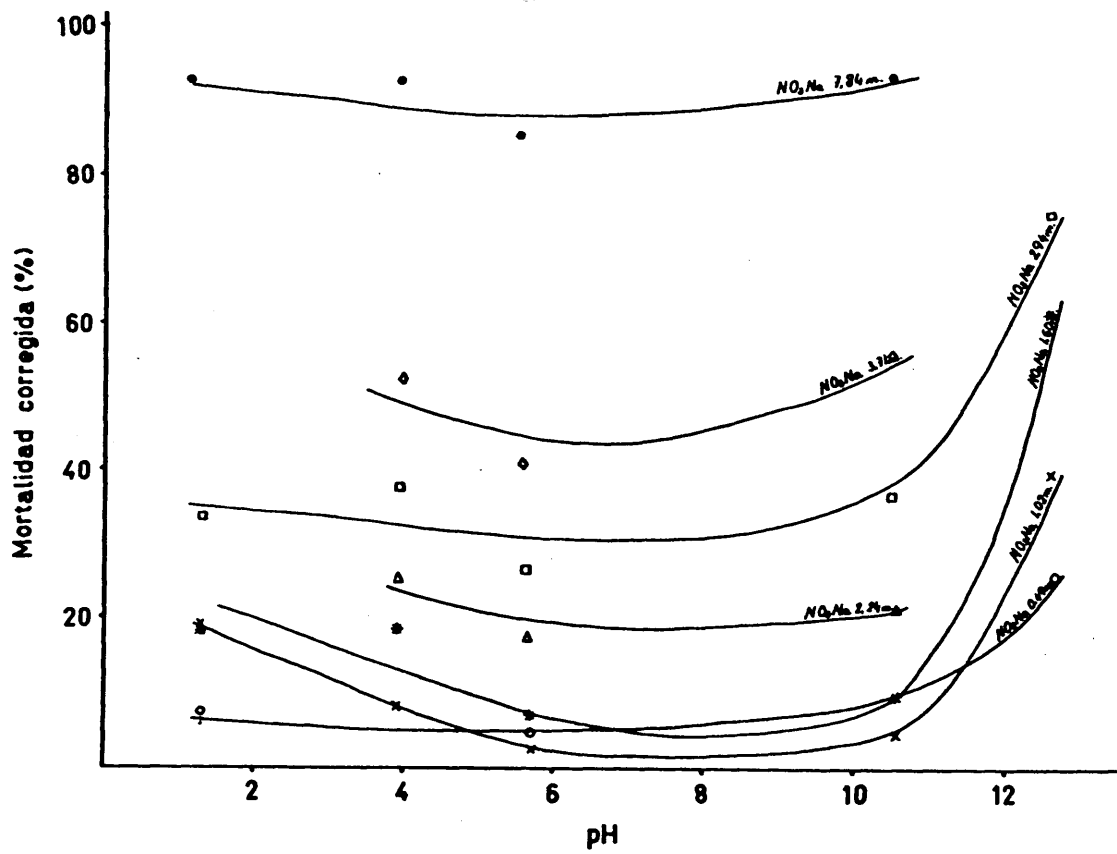
Mortalidad corregida (%) en huevos de Ceratitidis capitata (Wied.) en función del pH medio de distintas soluciones de electrolitos.

NO<sub>3</sub> Na

$\frac{m}{\text{pH}}$	0,49	1,02	1,60	2,24	2,94	3,71	4,59	5,04	6,62	7,84
1,27	5,24	19,01	18,55	---	33,86	---	65,54	---	91,65	92,95
3,92	---	8,16	18,62	25,25	37,50	52,29	---	80,36	---	92,86
5,70	4,51	2,56	6,96	17,74	26,23	40,35	---	---	---	85,14
10,55	---	4,62	9,24	21,43	36,49	55,52	---	85,45	---	93,07
12,63	25,66	39,42	60,85	---	74,60	---	90,74	---	99,99	---

Fig. 14

Variación de la mortalidad corregida en huevos de Ceratitis capitata (Wied.) con el pH de diferentes soluciones de Nitrato sódico.



T A B L A    XXIII

---

Mortalidad en huevos de Ceratitidis capitata (Wied.) con diferentes soluciones de  $\text{NO}_3\text{K}$  ( $\overline{\text{pH}} = 1,21$ ).

<u>m</u>	<u>Huevos puestos</u>	<u>Mortalidad (%)</u>	<u>Mortalidad corregida (%)</u>
0,41	400	11,00	6,56
0,86	400	14,00	9,71
1,35	400	15,25	11,02
1,88	400	14,25	9,73
2,47	400	15,00	10,76
Control ( $\text{H}_2\text{O}$ )	400	4,75	---

$\text{NO}_3\text{K}$  ( $\overline{\text{pH}} = 4,01$ )

0,41	400	9,75	5,99
0,86	400	7,50	3,64
1,35	400	13,00	9,37
1,88	400	10,25	6,51
2,47	400	12,75	9,11
Control ( $\text{H}_2\text{O}$ )	400	4,00	---

T A B L A XXIII (Continuación)

NO<sub>3</sub> K ( $\overline{\text{pH}} = 10,07$ )

<u>m</u>	<u>Huevos puestos</u>	<u>Mortalidad (%)</u>	<u>Mortalidad corregida (%)</u>
0,41	400	8,00	5,88
0,86	400	8,75	6,65
1,35	400	8,00	5,88
1,88	400	12,25	10,23
2,47	400	14,25	12,28
Control (H <sub>2</sub> O)	400	2,25	---

NO<sub>3</sub> K ( $\overline{\text{pH}} = 12,00$ )

0,41	400	12,50	7,65
0,86	400	21,00	16,62
1,35	400	18,50	13,98
1,88	400	23,00	18,73
2,47	400	28,25	24,27
Control (H <sub>2</sub> O)	400	5,25	---

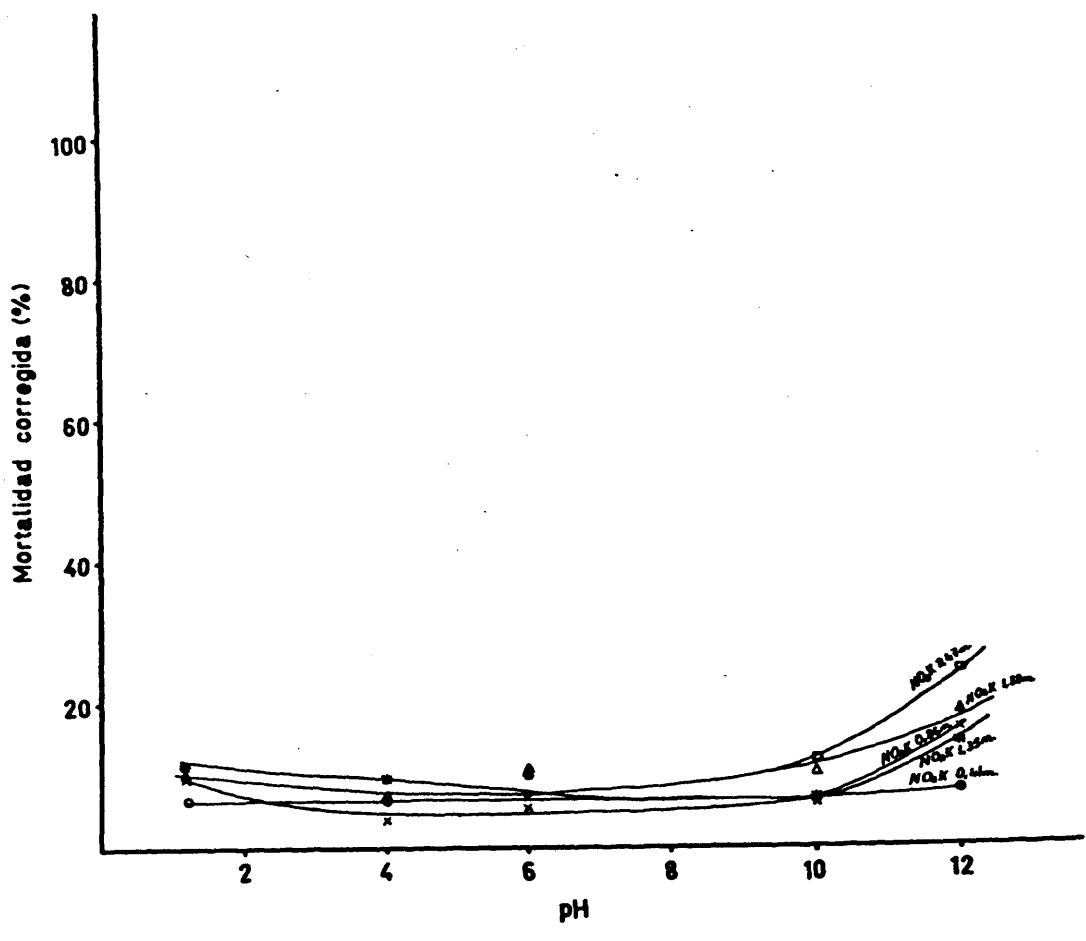
T A B L A XXIV

Mortalidad corregida (%) en huevos de Ceratitidis capitata (Wied.) en función del pH medio de distintas soluciones de electrolitos.

$\overline{\text{pH}}$	$\text{NO}_3 \text{ K}$				
	0,41	0,86	1,35	1,88	2,47
1,21	6,56	9,71	11,02	9,73	10,76
4,01	5,99	3,64	9,37	6,51	9,11
5,96	7,34	5,24	10,27	10,48	10,90
10,07	5,88	6,65	5,88	10,23	12,28
12,00	7,65	16,62	13,98	18,73	24,27

Fig. 15

Variación de la mortalidad corregida en huevos de Ceratitis capitata (Wied.) con el pH de diferentes soluciones de Nitrato potásico.



T A B L A XXV

Mortalidad en huevos de Ceratitidis capitata (Wied.) con diferentes soluciones de  $(\text{NO}_3)_2 \text{Ca}$  ( $\overline{\text{pH}}= 0,92$ ).

<u>mm</u>	<u>Huevos puestos</u>	<u>Mortalidad (%)</u>	<u>Mortalidad corregida (%)</u>
0,53	400	14,50	10,00
1,16	400	16,50	12,10
1,92	400	34,50	31,05
2,87	400	61,50	59,47
4,06	400	85,50	84,74
5,62	400	98,00	97,89
Control ( $\text{H}_2\text{O}$ )	400	5,00	---

$(\text{NO}_3)_2 \text{Ca}$  ( $\overline{\text{pH}}= 3,89$ )

0,53	400	9,75	5,00
1,16	400	13,00	8,42
1,92	400	24,50	20,26
2,87	400	53,50	51,05
4,06	400	81,00	79,99
5,62	400	96,25	96,05
Control ( $\text{H}_2\text{O}$ )	400	5,00	---

T A B L A XXVI

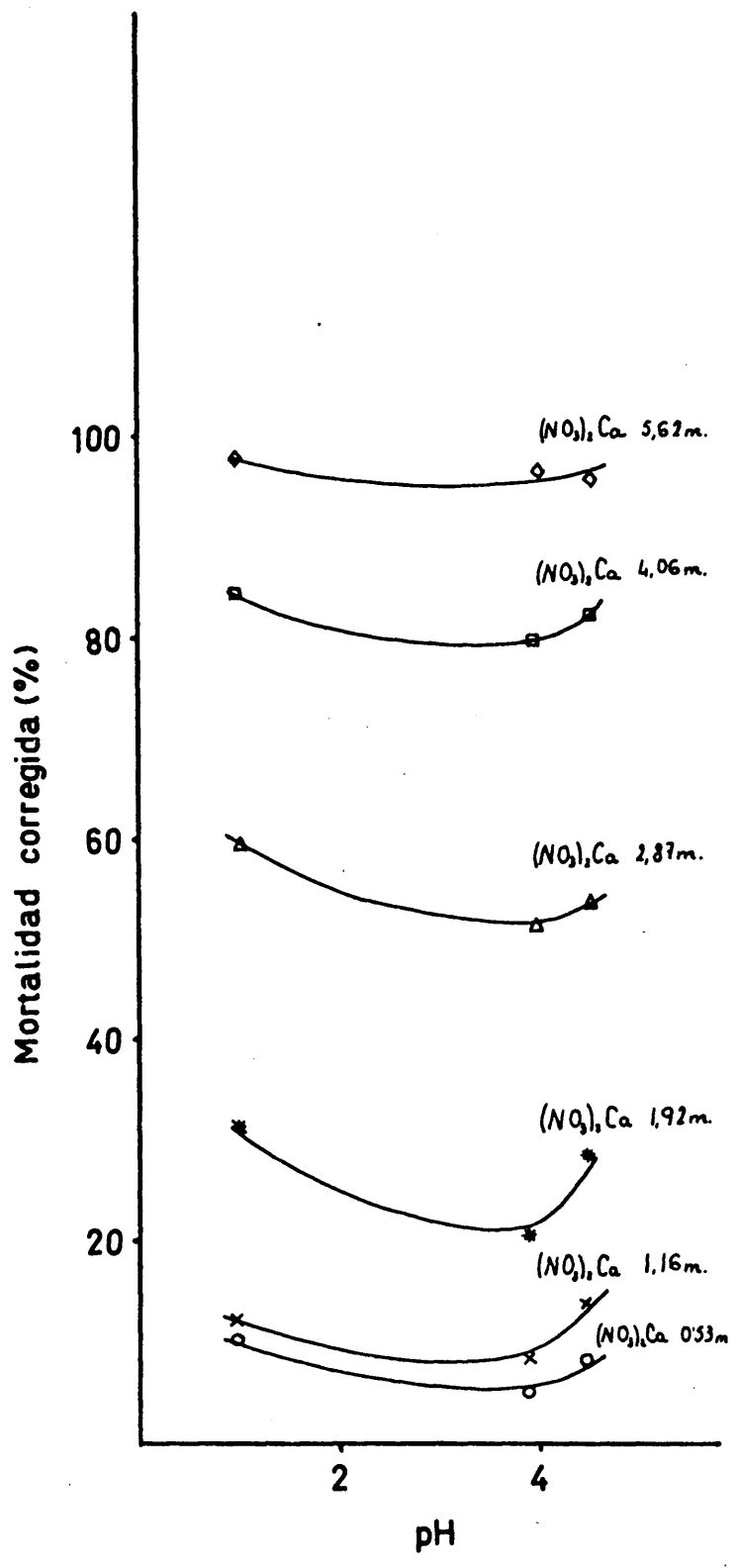
Mortalidad corregida (%) en huevos de Ceratitidis capitata (Wied.) en función del pH medio de distintas soluciones de electrolitos.

(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> Ca

$\overline{\text{pH}}$	m	0,53	1,16	1,92	2,87	4,06	5,62
0,92		10,00	12,10	31,05	59,47	84,74	97,89
3,89		5,00	8,42	20,26	51,05	79,99	96,05
4,46		8,33	13,88	28,72	53,50	81,83	95,22

Fig. 16

Variación de la mortalidad corregida en huevos de Cera-  
tibis capitata (Wied.) con el pH de diferentes soluciones de Ni-  
trato cálcico.



## T A B L A XXVII

Mortalidad en huevos de *Ceratitis capitata* (Wied.)  
con diferentes soluciones de  $\text{SO}_4\text{Li}_2$  ( $\overline{\text{pH}} = 1,89$ )

<u>m</u>	<u>Huevos puestos</u>	<u>Mortalidad (%)</u>	<u>Mortalidad corregida (%)</u>
0,79	500	11,80	7,74
1,24	500	16,00	12,13
1,73	500	17,60	13,81
2,27	500	27,60	24,27
2,87	400	37,50	34,62
3,54	400	60,50	58,68
Control ( $\text{H}_2\text{O}$ )	500	4,40	---

$\text{SO}_4\text{Li}_2$  ( $\overline{\text{pH}} = 3,91$ )

0,38	350	9,72	3,36
0,79	350	11,72	5,50
1,24	350	12,00	5,81
1,73	350	16,57	10,70
2,27	350	23,14	17,74
3,54	350	23,72	18,35
Control ( $\text{H}_2\text{O}$ )	350	6,57	---

T A B L A XXVII (Continuación)

$\text{SO}_4\text{Li}_2$ ( $\overline{\text{pH}} = 9,78$ )			
<u>m</u>	<u>Huevos puestos</u>	<u>Mortalidad (%)</u>	<u>Mortalidad corregida (%)</u>
0,38	550	15,82	9,75
0,79	550	20,00	14,23
1,24	550	23,46	17,93
1,73	350	23,43	17,90
2,27	350	29,14	24,03
3,54	350	44,72	39,65
Control ( $\text{H}_2\text{O}$ )	550	6,73	
$\text{SO}_4\text{Li}_2$ ( $\overline{\text{pH}} = 12,32$ )			
0,04	500	15,20	7,99
0,09	500	27,60	21,45
0,18	500	59,60	56,17
0,38	650	87,08	85,98
0,79	650	99,54	99,50
Control ( $\text{H}_2\text{O}$ )	650	7,23	---

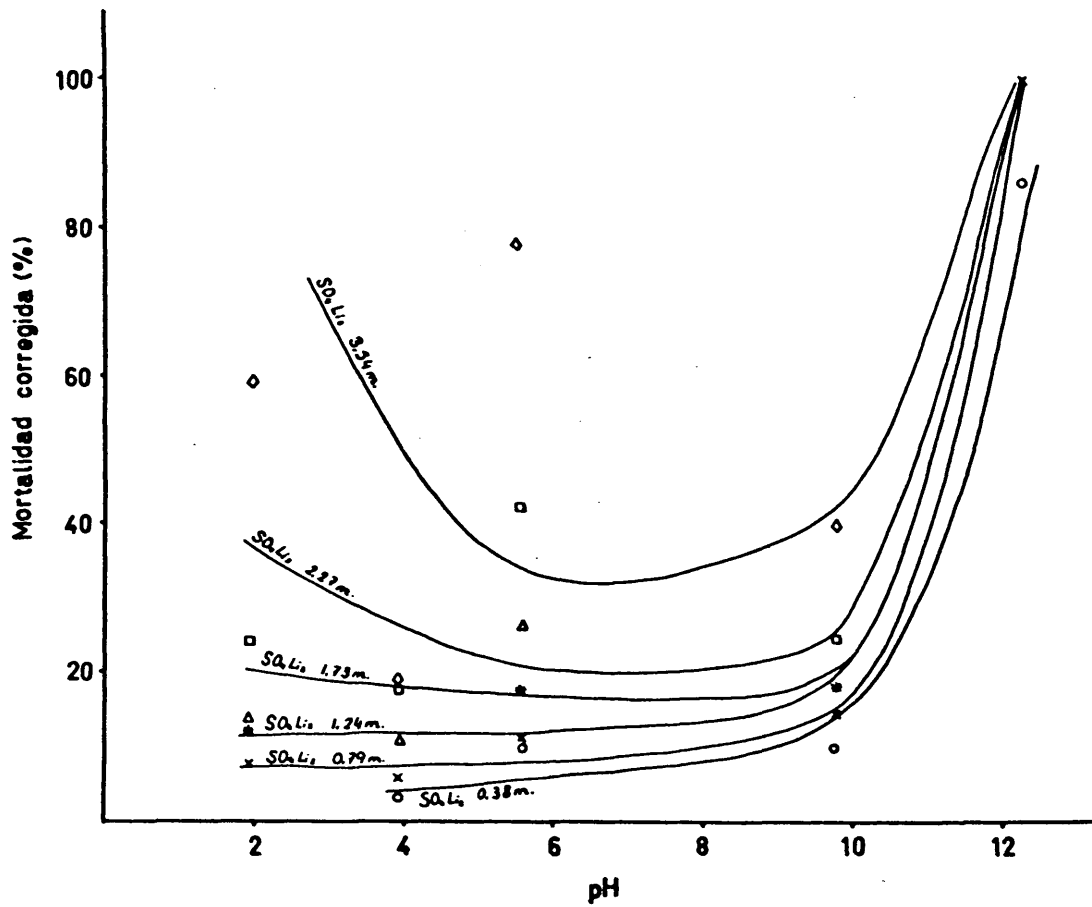
T A B L A XXVIII

Mortalidad corregida (%) en huevos de Ceratitls capitata (Wied.) en función del pH medio de distintas soluciones de electrolitos.

m pH	SO <sub>4</sub> Li <sub>2</sub>					
	0,79	1,24	1,73	2,27	3,54	
1,89	---	7,74	12,13	13,81	24,27	58,68
3,91	3,36	5,50	5,81	10,70	17,74	18,35
5,58	9,92	10,85	17,55	26,32	42,27	77,23
9,78	9,75	14,23	17,93	17,90	24,03	39,65
12,32	85,98	99,50	---	---	---	---

Fig. 17

Variación de la mortalidad corregida en huevos de Ceratitis capitata (Wied.) con el pH de diferentes soluciones de Sulfato de litio.



XXIX y XXX y Fig. 18).

El sulfato potásico es el menos soluble de este grupo por lo que sólo se pudo alcanzar un 10,90 % de mortalidad con soluciones del 12 % y, como muestran las TABLAS XXXI y XXXII, así como la Fig. 19, cuando se ensayaron disoluciones de  $\overline{\text{pH}}$  11,98, los porcentajes de mortalidad son más altos pero a las concentraciones más elevadas que pudieron prepararse.

Por último se realizaron experimentos análogos con acetato sódico, para lo que se ajustaron las soluciones preparadas a  $\overline{\text{pH}}$  4,95 ; 9,26 ; 12,24 y 13,03. Resultó que, en este caso, en la zona comprendida entre  $\overline{\text{pH}}$  9,26 y 12,24 se observan los menores índices de mortalidad para una concentración determinada, mientras que a  $\overline{\text{pH}}$  4,95 y 13,03 se dan los mayores y siempre más altos a  $\overline{\text{pH}}$  4,95. (TABLAS XXXIII y XXXIV y Fig. 20), contrariamente a lo que ocurre en los demás casos.

Con objeto de realizar un estudio comparativo en estos experimentos se hicieron representaciones gráficas de los resultados de mortalidad frente a las concentraciones molales para cada  $\overline{\text{pH}}$ .

Respecto a  $\overline{\text{pH}} \simeq 1$ , observamos en la Fig. 21 que, entre los cloruros, el orden de toxicidad es  $\text{ClLi} > \text{ClNa} > \text{ClK} > \text{Cl}_2\text{Ca}$  aunque hay que hacer constar que este orden permanece así para todas las concentraciones entre  $\text{ClLi}$  y  $\text{ClNa}$ , mientras que para  $\text{ClNa}$ ,  $\text{ClK}$  y  $\text{Cl}_2\text{Ca}$ , cuando la concentración es inferior a 2,3 m. es más tóxico el  $\text{ClK}$  y el  $\text{Cl}_2\text{Ca}$ ; entre éstos últimos, hasta 1,7 m. ejerce mayor efecto letal el  $\text{Cl}_2\text{Ca}$  y a partir de aquí el

## T A B L A XXIX

Mortalidad en huevos de Ceratitis capitata (Wied.)  
con diferentes soluciones de  $\text{SO}_4\text{Na}_2$  ( $\overline{\text{pH}} = 1,64$ ).

<u>m</u>	<u>Huevos puestos</u>	<u>Mortalidad (%)</u>	<u>Mortalidad corregida (%)</u>
0,14	400	13,25	7,47
0,29	400	10,75	4,80
0,61	400	12,50	6,67
0,96	400	15,25	9,60
1,34	400	12,75	6,93
1,76	400	16,25	10,67
3,02	400	18,00	12,53
Control ( $\text{H}_2\text{O}$ )	400	6,25	---
$\text{SO}_4\text{Na}_2$ ( $\overline{\text{pH}} = 4,06$ )			
0,14	400	7,00	1,06
0,29	400	7,00	1,06
0,61	400	8,75	2,92
0,96	400	9,50	3,72
1,34	400	9,75	3,99
1,76	400	9,25	3,46
Control ( $\text{H}_2\text{O}$ )	400	6,00	---

T A B L A XXIX (Continuación)

$$\text{SO}_4\text{Na}_2 \quad (\overline{\text{pH}} = 10,05)$$

<u>m</u>	<u>Huevos puestos</u>	<u>Mortalidad (%)</u>	<u>Mortalidad corregida (%)</u>
0,14	400	8,25	1,87
0,29	400	11,25	5,08
0,61	400	11,50	5,35
0,96	400	11,75	5,61
1,34	400	12,00	5,88
1,76	400	11,75	5,61
Control (H <sub>2</sub> O)	400	6,50	---

$$\text{SO}_4\text{Na}_2 \quad (\overline{\text{pH}} = 12,81)$$

0,14	400	17,50	12,06
0,29	400	29,50	24,85
0,61	550	43,27	39,53
0,96	550	57,64	54,84
1,34	550	76,00	74,42
1,76	550	72,18	70,35
3,02	550	74,00	72,29
Control (H <sub>2</sub> O)	550	6,18	---

T A B L A   X X X

Mortalidad corregida (%) en huevos de Ceratitis capitata (Wied.) en función del pH medio de distintas soluciones de electrolitos.

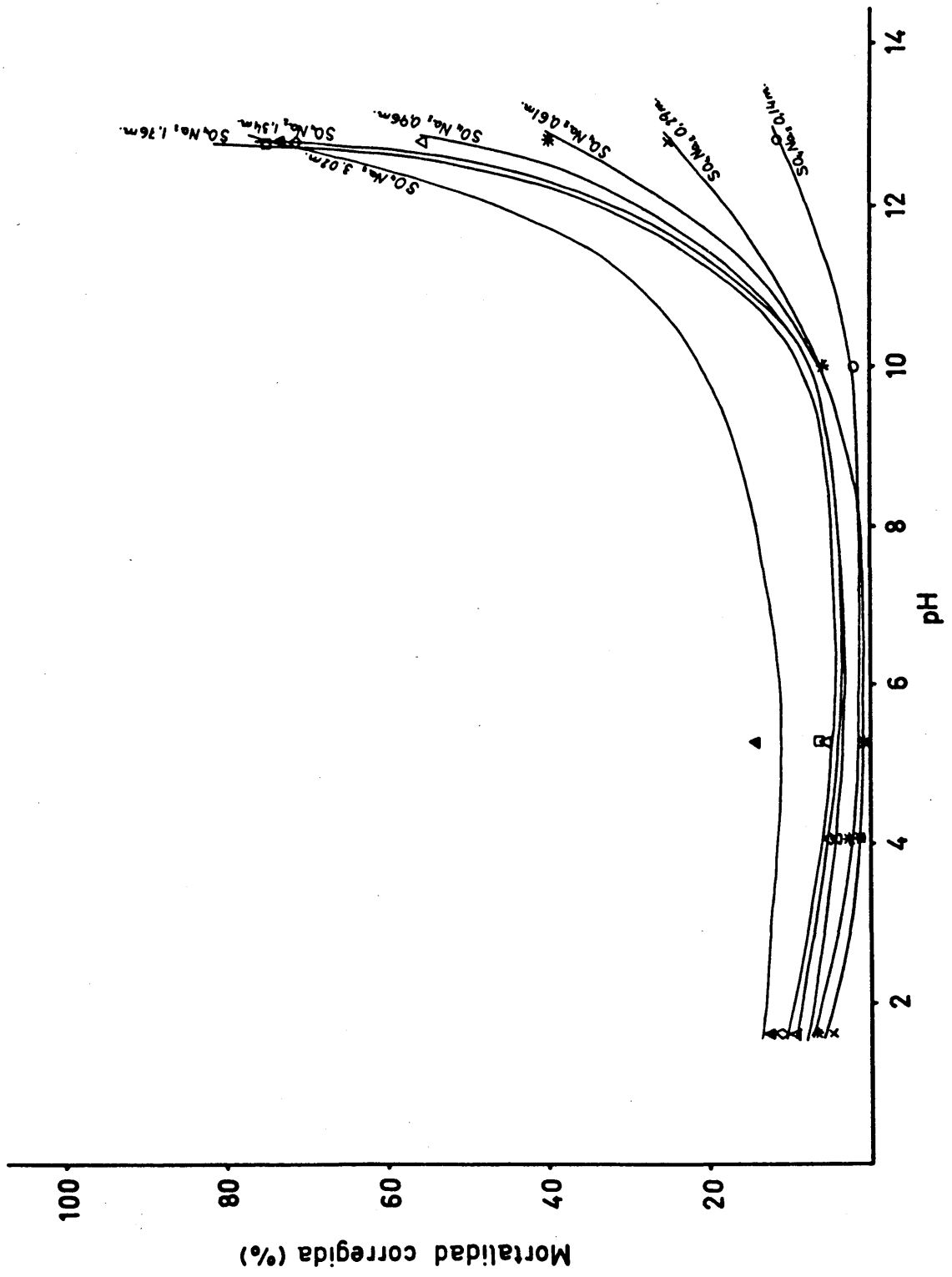
SO<sub>4</sub> Na<sub>2</sub>

$\overline{\text{pH}}$	0,14	0,29	0,61	0,96	1,34	1,76	3,02
1,64	7,47	4,80	6,67	9,60	6,93	10,67	12,53
4,06	1,06	1,06	2,92	3,72	3,99	3,46	---
5,27	---	---	0,80	5,08	6,15	6,15	14,44
10,05	1,87	5,08	5,35	5,61	5,88	5,61	---
12,81	12,06	24,85	39,53	54,84	74,42	70,35	72,29

Fig. 18

Variación de la mortalidad corregida en huevos de Ceratitidis capitata (Wied.)

con el  $\overline{\text{pH}}$  de diferentes soluciones de Sulfato sódico.



T A B L A XXXI

Mortalidad en huevos de Ceratitidis capitata (Wied.) con diferentes soluciones de  $\text{SO}_4\text{K}_2$  ( $\overline{\text{pH}} = 1,67$ ).

<u>m</u>	<u>Huevos puestos</u>	<u>Mortalidad (%)</u>	<u>Mortalidad corregida (%)</u>
0,03	400	10,25	5,53
0,06	400	14,50	10,00
0,12	400	13,00	8,42
0,24	400	13,75	9,21
0,50	400	10,25	5,53
0,78	400	12,50	7,89
Control ( $\text{H}_2\text{O}$ )	400	5,00	---

$\text{SO}_4\text{K}_2$  ( $\overline{\text{pH}} = 3,93$ )

0,03	400	10,25	5,03
0,06	400	9,25	3,97
0,12	400	11,50	6,35
0,24	400	8,50	3,17
0,50	400	10,25	5,03
0,78	400	9,50	4,25
Control ( $\text{H}_2\text{O}$ )	400	5,50	---

T A B L A XXXI (Continuación)

$\text{SO}_4\text{K}_2$ ( $\overline{\text{pH}} = 10,13$ )			
<u>m</u>	<u>Huevos puestos</u>	<u>Mortalidad (%)</u>	<u>Mortalidad corregida (%)</u>
0,03	400	8,50	2,66
0,06	400	11,25	5,58
0,12	400	9,50	3,72
0,24	400	10,25	4,52
0,50	400	11,25	5,58
0,78	400	12,75	7,18
Control ( $\text{H}_2\text{O}$ )	400	6,00	---
$\text{SO}_4\text{K}_2$ ( $\overline{\text{pH}} = 11,98$ )			
0,03	400	8,00	3,66
0,06	400	9,75	5,50
0,12	400	14,00	9,95
0,24	400	16,50	12,56
0,50	400	20,00	16,23
0,78	400	17,50	13,61
Control ( $\text{H}_2\text{O}$ )	400	4,50	---

T A B L A    XXVII

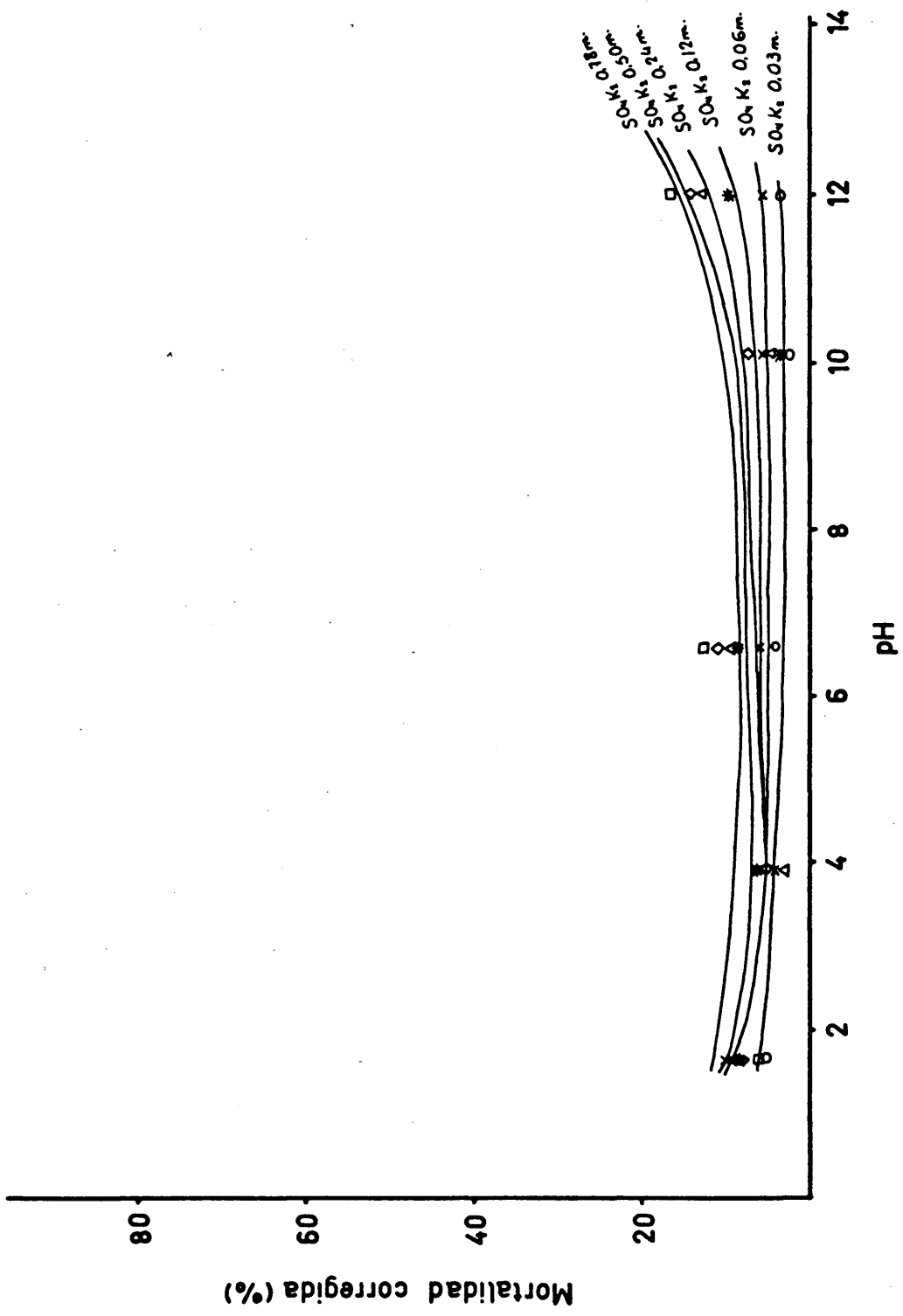
Mortalidad corregida (%) en huevos de Ceratitidis capitata (Wied.) en función del pH medio de distintas soluciones de electrolitos.

SO<sub>4</sub> K<sub>2</sub>

m \ pH	0,03	0,06	0,12	0,24	0,50	0,78
1,67	5,53	10,00	8,42	9,21	5,53	7,89
3,93	5,03	3,97	6,35	3,17	5,03	4,25
6,58	3,99	5,85	8,78	9,84	12,50	10,90
10,13	2,66	5,58	3,72	4,52	5,58	7,18
11,98	3,66	5,50	9,95	12,56	16,23	13,61

Fig. 19

Variación de la mortalidad corregida en huevos de Ceratitidis capitata (Wied.)  
con el  $\overline{\text{pH}}$  de diferentes soluciones de Sulfato potásico.



T A B L A    XXXIII

---

Mortalidad en huevos de Ceratitidis capitata (Wied.)  
con diferentes soluciones de AcNa ( $\overline{\text{pH}} = 4,95$ ).

m	Huevos puestos	Mortalidad (%)	Mortalidad corregida (%)
0,51	550	10,73	6,12
1,06	550	19,82	15,68
1,35	400	40,50	37,43
1,66	550	64,55	62,71
1,98	400	80,00	78,97
2,32	550	96,55	96,37
3,05	550	100,00	100,00
Control (H <sub>2</sub> O)	550	4,91	---

Ac Na ( $\overline{\text{pH}} = 12,24$ )

1,06	350	6,86	3,83
1,66	350	10,29	7,37
2,32	350	16,00	13,27
3,05	350	34,00	31,86
3,85	350	48,86	47,20
4,74	350	76,29	75,52
5,73	350	91,14	90,85
Control (H <sub>2</sub> O)	350	3,14	---

T A B L A XXXIII (Continuación)

AcNa ( $\overline{\text{pH}} = 13,03$ )

<u>m</u>	<u>Huevos puestos</u>	<u>Mortalidad (%)</u>	<u>Mortalidad corregida (%)</u>
0,51	400	16,00	13,62
1,06	400	33,00	31,10
1,66	400	48,50	47,04
2,32	400	53,75	52,44
3,05	400	72,75	71,98
3,85	400	91,50	91,26
4,74	400	99,50	99,48
Control (H <sub>2</sub> O)	400	2,75	---

T A B L A XXXIV

Mortalidad corregida (%) en huevos de Ceratitidis capitata (Wied.) en función del pH medio de distintas soluciones de electrolitos.

m	1,06	1,66	2,32	3,05	3,85	4,74	5,73
pH	15,68	62,71	96,37	100,00	---	---	---
4,95	4,03	5,37	11,32	27,45	38,97	78,88	85,43
9,26	3,83	7,37	13,27	31,86	47,20	75,52	90,85
12,24	31,10	47,04	52,44	71,98	91,26	99,48	---
13,03							

Fig. 20

Variación de la mortalidad corregida en huevos de Ceratitis capitata (Wied.) con el pH de diferentes soluciones de Acetato sódico.

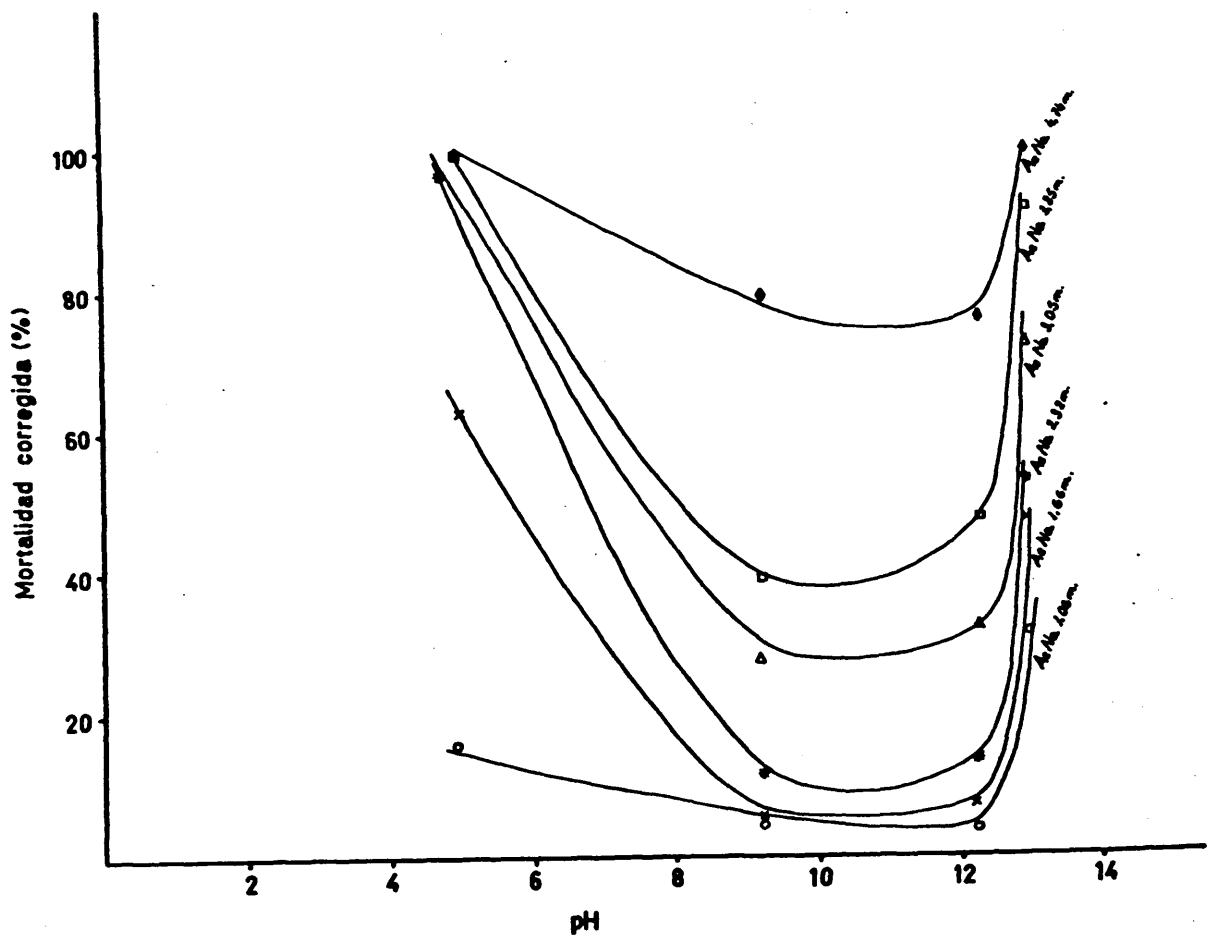
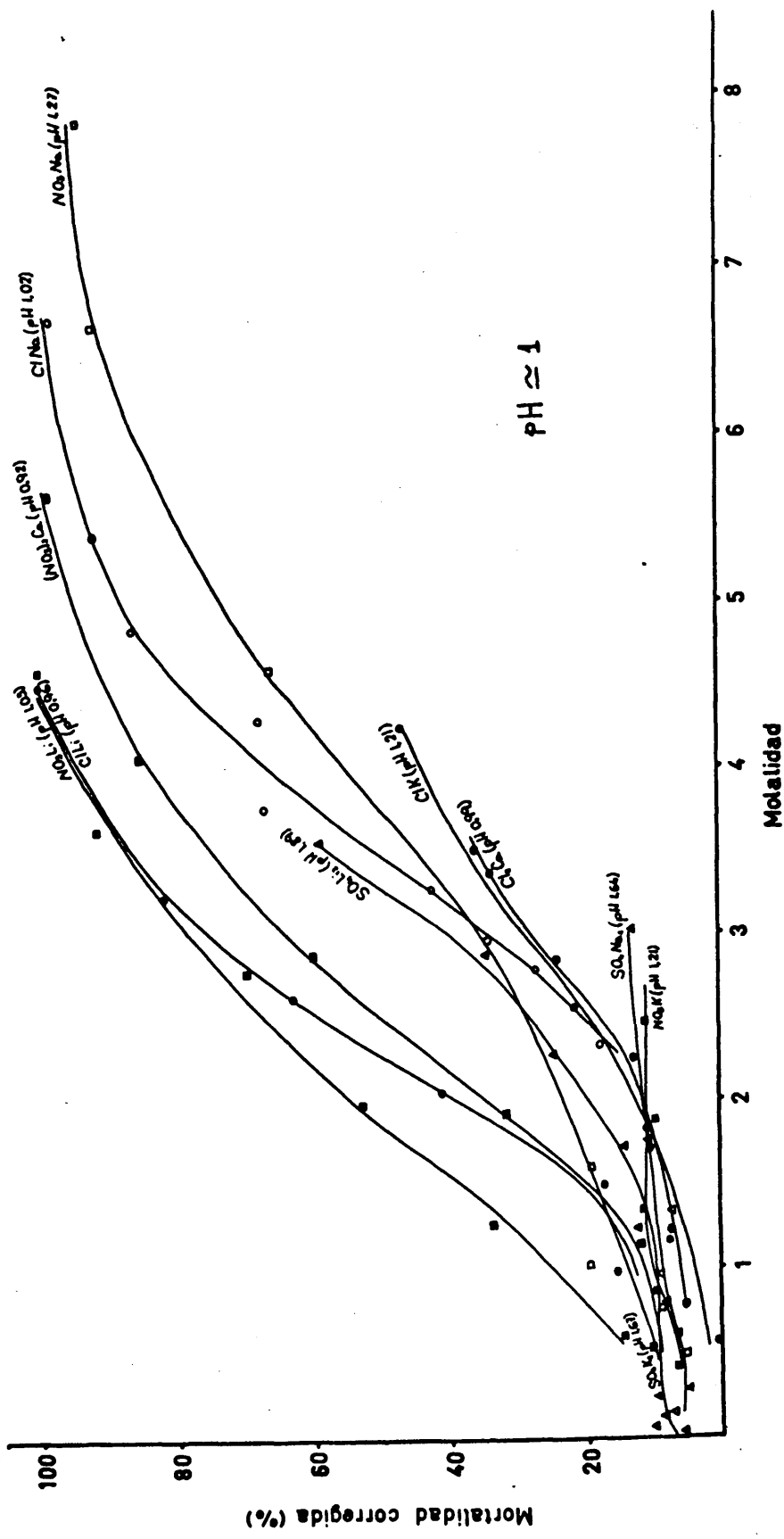


Fig. 21

Variación de la mortalidad corregida en huevos de Ceratitidis capitata (Wied.) con la concentración molar de soluciones de diferentes productos químicos a pH= 1.



ClK.

Para los nitratos, el orden es  $\text{NO}_3\text{Li} > (\text{NO}_3)_2\text{Ca} > \text{NO}_3\text{Na} > \text{NO}_3\text{K}$  prácticamente en todo el campo de concentraciones utilizado.

Con los sulfatos se aprecia claramente que no hay duda respecto a la mayor toxicidad del  $\text{SO}_4\text{Li}_2$ , pero entre los sulfatos de sodio y potasio, las diferencias son poco notables, aunque a bajas concentraciones, (hasta 0,8 m.) sea más letal el segundo.

Para  $\overline{\text{pH}} \simeq 4$  (Fig. 22) es necesario tener más en cuenta las concentraciones a que se refieren los porcentajes de mortalidad observados. Con los cloruros, vemos que el de litio es más tóxico que los demás en todos los casos; sin embargo hasta aproximadamente 2 m. en los de sodio, potasio y calcio, predomina el efecto letal del 1º, seguido del cálcico, siendo el de potasio el menos tóxico. Cuando la concentración es mayor de 2 m. el orden es  $\text{Cl}_2\text{Ca} > \text{ClNa} > \text{ClK}$  hasta 3 m. y a partir de aquí es  $\text{ClK} > \text{ClNa}$ , manteniéndose el de calcio en primer lugar.

En cuanto a los nitratos ocurre igual que a  $\overline{\text{pH}} \simeq 1$ , puesto que siempre se mantiene que  $\text{NO}_3\text{Li} > (\text{NO}_3)_2\text{Ca} > \text{NO}_3\text{Na} > \text{NO}_3\text{K}$ .

Los sulfatos, a este  $\overline{\text{pH}}$ , son poco tóxicos todos aunque el de litio es notablemente más que el resto.

También se ensayaron a éste  $\overline{\text{pH}}$ , soluciones de acetato sódico que como puede verse es el que presenta mayor toxicidad.

Cuando pasamos a la zona alcalina (Fig. 23), nos en--

Fig. 22

Variación de la mortalidad corregida en huevos de Ceratitidis capitata (Wied.) con la concentración molar de soluciones de diferentes productos químicos a pH= 4.



Fig. 23

Variación de la mortalidad por egida, en huevos de Ceratitidis capitata (Wied.) con la concentración molar de soluciones de diferentes productos químicos a pH= 10.



contramos que a  $\overline{\text{pH}} \approx 10$  comparando los cloruros, el de litio ocupa el primer lugar respecto a su toxicidad, seguido del de sodio y por último el potásico cuando la concentración es superior a 2,2 m., pero en la zona anterior lo es más el de potasio.

Algo parecido ocurre con los nitratos siendo muy superior la toxicidad del de litio a todas las concentraciones ensayadas. A concentraciones bajas, hasta 1,5 m., es más letal el de potasio que el de sodio, pero a partir de éste nivel, lo es el sódico.

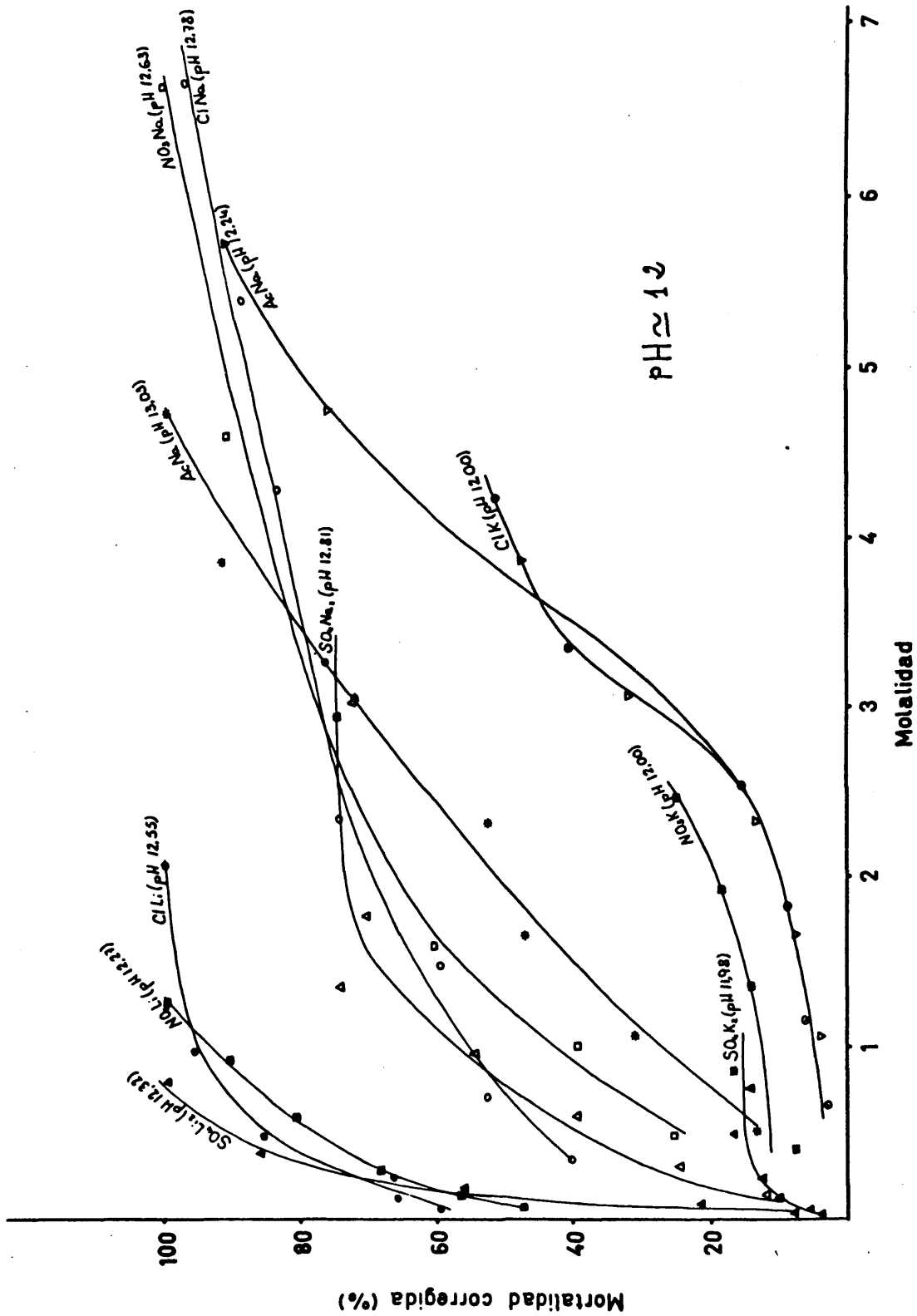
Los sulfatos tampoco presentan efectos letales muy elevados en esta zona de alcalinidad y el orden de toxicidad es  $\text{SO}_4\text{K}_2 > \text{SO}_4\text{Na}_2$ .

El acetato sódico es muy tóxico, pero menos que el  $\text{ClLi}$  y  $\text{NO}_3\text{Li}$ , quedando su efecto semejante al del  $\text{ClNa}$ . Las soluciones de urea que dan  $\overline{\text{pH}} = 8,5$  son menos tóxicas que las anteriores (Fig.7).

Ya hemos señalado que los huevos de Ceratitis son francamente sensibles en medios muy alcalinos. Observando la Fig. 24 donde se han representado sus mortalidades frente a diferentes concentraciones, de todos los electrolitos utilizados para  $\overline{\text{pH}} \approx 12$  vemos que existen diferencias enormes en cuanto a la toxicidad de los cloruros, siendo el orden  $\text{ClLi} > \text{ClNa} > \text{ClK}$ ; asimismo, con los nitratos y los sulfatos ocurre igual, alcanzándose en todos los casos porcentajes de mortalidad elevados con excepción de aquéllos compuestos con los que, como el  $\text{ClK}$ ,  $\text{NO}_3\text{K}$  y  $\text{SO}_4\text{K}_2$  no pudieron prepararse soluciones concentradas --

Fig. 24

Variación de la mortalidad corregida en huevos de Ceratitis capitata (Wied.)  
con la concentración molar de soluciones de diferentes productos químicos a pH= 12.



por su pequeña solubilidad.

Si consideramos ahora la toxicidad respecto a los diferentes aniones observamos que, para  $\overline{\text{pH}} \simeq 1$ , es más letal el  $\text{NO}_3\text{Li}$  que el  $\text{ClLi}$  y éste más que el  $\text{SO}_4\text{Li}_2$ , mientras que en el caso del sodio, el  $\text{NO}_3\text{Na}$  lo es más que el  $\text{SO}_4\text{Na}_2$  y éste más que el  $\text{ClNa}$  a concentraciones por debajo de 2 m.; a partir de aquí el orden es  $\text{ClNa} > \text{NO}_3\text{Na} > \text{SO}_4\text{Na}_2$ .

Para el potasio, hasta concentraciones 1,8 m. es más letal el  $\text{SO}_4\text{K}_2$ , seguido del  $\text{NO}_3\text{K}$  y por último el  $\text{ClK}$ . Cuando la concentración aumenta es más tóxico el  $\text{ClK}$ . El  $(\text{NO}_3)_2\text{Ca}$  lo es siempre más que el  $\text{Cl}_2\text{Ca}$ .

Para  $\overline{\text{pH}} \simeq 4$  las sales de litio presentan el siguiente orden de acción letal  $\text{NO}_3^- > \text{Cl}^- > \text{SO}_4^{2-}$ ; las de sodio,  $\text{Ac}^- > \text{NO}_3^- > \text{Cl}^- > \text{SO}_4^{2-}$  siempre; para las de potasio  $\text{SO}_4^{2-} > \text{NO}_3^- > \text{Cl}^-$  a concentraciones inferiores a 1,6 m. y  $\text{Cl}^- > \text{NO}_3^-$  si son superiores, no pudiendo contrastar con el  $\text{SO}_4\text{K}_2$  por no haberse podido preparar soluciones más concentradas. El  $(\text{NO}_3)_2\text{Ca}$  es siempre más tóxico que el  $\text{Cl}_2\text{Ca}$ .

Al pasar a la zona alcalina, y concretamente para  $\overline{\text{pH}} \simeq 10$ , observamos que con el litio es claramente  $\text{ClLi} > \text{NO}_3\text{Li} > \text{SO}_4\text{Li}_2$ , mientras que con el sodio, es necesario establecer en qué zonas de concentración se hace la comparación. Hasta 1 m. presentan igual toxicidad el nitrato, el acetato y el sulfato, siendo el cloruro el menos letal, pero los niveles de mortalidad en todos los casos son muy pequeños, del orden del 5 %. A partir de aquí se aprecia un rápido aumento de la mortalidad --

excepto en el  $\text{SO}_4\text{Na}_2$  con el que no se supera el 6 %. Para concentraciones elevadas el orden de toxicidad es  $\text{NO}_3^- > \text{Cl}^- > \text{Ac}^-$ , aunque cuando se llega aproximadamente a 6 m. se invierten los términos, siendo  $\text{Cl}^- > \text{Ac}^- > \text{NO}_3^-$ .

Las sales de potasio son prácticamente equitóxicas hasta 2 m. pero por encima de esta concentración el cloruro es más letal que el nitrato, aunque es preciso hacer constar que sólo se ensayaron soluciones 2,47 m. de  $\text{NO}_3\text{K}$  y 0,78 m. de  $\text{SO}_4\text{K}_2$ .

Las soluciones muy alcalinas ( $\overline{\text{pH}} \simeq 12$ ) ofrecen las siguientes características toxicológicas considerando cationes comunes.

El  $\text{SO}_4\text{Li}_2$  es el que más rápidamente proporciona niveles de mortalidad elevada, apareciendo, en conjunto, como el más tóxico; a continuación el  $\text{ClLi}$  y por último el  $\text{NO}_3\text{Li}$ , aunque no hay diferencias muy bruscas en las tres sales.

Para el sodio, hasta concentraciones 2,6 m. es más letal el sulfato, seguido del cloruro; después el nitrato y por último el acetato, con no muchas diferencias entre ellos. A concentraciones superiores el orden es  $\text{NO}_3\text{Na} > \text{ClNa} > \text{SO}_4\text{Na}_2 > \text{AcNa}$ .

También se ensayó con soluciones de  $\text{AcNa}$  a  $\overline{\text{pH}} \simeq 13$  y mostraron más toxicidad que las otras a partir de 3,6 m.

Las soluciones de  $\text{SO}_4\text{K}_2$  ensayadas son más tóxicas que las de  $\text{NO}_3\text{K}$  a las mismas concentraciones y éstas más que las de  $\text{ClK}$ .

Todo lo expuesto anteriormente se refiere a las observaciones directas de los resultados. En el capítulo de material

y métodos se explicó que a la vista de estas observaciones y con siderando que la relación mortalidad-dosis muestran curvas de tipo sigmoideo, se sometieron los datos experimentales a análisis de probits, por dos métodos, resultando ser más idóneo el de máxima verosimilitud. También se explicó entonces el significado de las diferentes columnas de información que se obtienen en tales análisis. Pues bien, en la TABLA XXXV aparecen los resultados de la aplicación del análisis de probits por el método elegido para todos los compuestos ensayados.

Antes de entrar en el comentario de la información, conviene señalar que en todos los casos se han realizado los análisis correspondientes para todas las unidades de concentración, presión osmótica y, además, actividad molal en el caso de las sales al  $\overline{pH}$  que dan sus soluciones sin ácidos ni bases, por las razones ya explicadas. Para más facilidad en el estudio comparativo sobre la toxicidad de los distintos productos, hemos elegido como referencia la molalidad, justificado, además, porque, como puede verse, las correlaciones que se obtienen con éstas son superiores, en general, a las de molaridad, normalidad y  $\%$ , y en los casos en que esto no ocurre las diferencias son pequeñas. Se ha elegido como dosis letal de referencia la  $DL_{90}$  porque a éste nivel se aprecia más claramente el orden de toxicidad, ya que a valores inferiores las curvas se cruzan, enmascarando tal orden.

Ya dijimos cuando nos referíamos a los resultados ob-

servados experimentalmente, que la glucosa muestra una acción tóxica escasísima; por esta razón la información que se obtiene del análisis de  $\overline{pH}$  vendrá afectada de un error considerable. Las ecuaciones muestran bajos coeficientes de correlación. También queda patente éste hecho al observar que los intervalos de confianza de las  $DL_{90}$  son muy amplios. (TABLA XXXV).

Para el cloruro de litio a  $\overline{pH}$ s 0,96 ; 4,00 ; 5,73 ; 10,37 y 12,55, las ecuaciones de probits demuestran su carácter altamente tóxico. Las correlaciones son muy altas en todos los casos, excepto para  $\overline{pH}$  10,37, precisamente cuando la sal presenta menor acción letal. Observando los valores de las  $DL_{90}$  se deduce claramente lo que ya comentamos al principio de este capítulo; o sea, se confirma que a  $\overline{pH}$ s muy bajos y muy altos, es decir en zonas fuertemente ácidas y alcalinas, la mortalidad es más elevada, pero ésta a su vez es mucho mayor en la región fuertemente alcalina. (Para obtener el 90 % de mortalidad en la población se requiere una solución 4,08 m. a  $\overline{pH}$  0,96, mientras -- que a  $\overline{pH}$  12,55 basta con que sea 0,62 m.) En todos los casos, los intervalos de confianza son pequeños. (TABLA XXXV).

Con el cloruro sódico, para el que se prepararon soluciones a  $\overline{pH}$ s 1,02 ; 4,01 ; 5,79 ; 10,66 y 12,78, es decir, muy análogas a las del  $ClLi$ , ocurre prácticamente igual en cuanto al comentario de la toxicidad por zonas de  $\overline{pH}$ , pero los valores de las  $DL_{90}$  muestran un menor efecto letal en éste producto, considerando  $\overline{pH}$ s semejantes, con la única excepción de las soluciones a  $\overline{pH} \approx 10$ . También en éste compuesto, las altas correlacio--

nes obtenidas entre los probits observados y las dosis logarítmicas, así como el hecho de que los intervalos de confianza --- sean pequeños, son prueba de que las ecuaciones representan objetivamente los resultados experimentales (TABLA XXXV).

Pasamos ahora a otro cloruro, el de potasio, en que para la zona de concentraciones que han podido experimentarse, se confirma mediante este análisis estadístico su menor acción tóxica sobre los huevos de Ceratitidis incluso en la zona de  $\overline{\text{pH}}$  elevado, requiriéndose soluciones muy concentradas (superiores a 10 m.) para obtener el 90 % de mortalidad. Sin embargo, aquí se observan buenas correlaciones también y relativamente cortos los intervalos de confianza, lo que evidencia su acción tóxica considerable y haciendo perfectamente válido el uso del análisis de probits. (TABLA XXXV).

Con el de calcio terminamos el comentario para esta primera serie de cloruros, diciendo que es el más tóxico de todos al  $\overline{\text{pH}}$  que proporcionan sus soluciones acuosas (8,26), mientras que en la zona muy ácida ( $\overline{\text{pH}}$  0,99) es el menos y en la de  $\overline{\text{pH}}$  4 lo es más que el de potasio y sodio pero no que el de litio.

Para el nitrato de litio, la TABLA XXXV muestra que es un compuesto tóxico, existiendo grandes diferencias según el pH de las soluciones utilizadas sobre todo en las muy alcalinas, con  $\text{DL}_{90}$  que varían desde 4,65 para  $\overline{\text{pH}}$  5,74 a 0,83 m. para  $\overline{\text{pH}}$  12,27.

El nitrato sódico es bastante menos letal que el de litio para todos los casos estudiados, a  $\overline{\text{pH}}$ s muy semejantes, --

manteniéndose, excepto para  $\overline{\text{pH}} = 5,70$ , que a medida que aumenta el  $\overline{\text{pH}}$ , la toxicidad es mayor y, como en los demás casos comentados, las soluciones muy alcalinas son las que presentan mayor efecto letal.

En cuanto al nitrato potásico, hemos de decir lo que ya hicimos con el cloruro, o sea, es el menos tóxico de los nitratos, requiriéndose soluciones altamente concentradas incluso en la zona muy alcalina ( $0,83 \cdot 10^3$  m. para  $\overline{\text{pH}} 12,00$ ); por ésta razón, las ecuaciones de probits vienen afectados de errores muy grandes en general, siendo relativamente bajos los valores de la correlación  $Y_{\text{obs}} - X$ ; apareciendo unos intervalos de confianza de las  $DL_{90}$  amplios.

Con el nitrato cálcico, para las soluciones que han podido prepararse ( $\overline{\text{pHs}} 0,92; 3,89$  y  $4,46$ ), ocurre que muestra una toxicidad superior a las del  $\text{NO}_3\text{Na}$  y  $\text{NO}_3\text{K}$ , e inferior a la del  $\text{NO}_3\text{Li}$ . Las correlaciones son buenas y los intervalos de confianza de las  $DL_{90}$  pequeños.

El sulfato de litio sólo es altamente tóxico a  $\overline{\text{pH}} 12,32$  zona en que su efecto letal es incluso superior al del Nitrato de litio. Para las soluciones utilizadas a los demás  $\overline{\text{pHs}}$  ( $1,89; 3,91; 5,58$  y  $9,78$ ), su toxicidad es baja; de ahí que las  $DL_{90}$  sean muy elevadas, las correlaciones no siempre buenas y los intervalos de confianza amplios.

Con los sulfatos de sodio y potasio llegamos a casos en que, junto con el Nitrato potásico, se alcanzan los niveles más bajos de mortalidad, aunque hemos de significar que a  $\overline{\text{pH}}$  --

12,81, el  $\text{SO}_4\text{Na}_2$  muestra una toxicidad moderada, del orden de la del  $\text{ClNa}$  a igual  $\overline{\text{pH}}$ .

El  $\text{SO}_4\text{K}_2$  es el menos tóxico de todos los productos -- utilizados en las regiones ensayadas ( $\overline{\text{pHs}}$  1,67; 3,93; 6,58; -- 10,13 y 11,98).

La información que se obtiene del análisis de probit en este caso viene afectada de errores considerables como en el de la glucosa y los compuestos antes mencionados, por las mismas razones que entonces se aludieron.

Por último, también se realizaron experimentos con Acetato sódico, Carbonato sódico y Urea. Con el primero se ensayaron soluciones de  $\overline{\text{pHs}}$  4,95; 9,26; 12,24 y 13,03 encontrándose, como puede apreciarse en esta TABLA, que su toxicidad es más elevada que en ningún otro caso a  $\overline{\text{pH}} \simeq 4$ , e intermedia a los demás.

Para el carbonato sódico, sólo se ensayaron soluciones al  $\overline{\text{pH}}$  que da el producto, es decir 11,49, mostrando una toxicidad baja, no alcanzándose siquiera el 50 % de mortalidad -- aún a concentraciones superiores a 2 m. (20 %).

Con la urea fué posible preparar soluciones de hasta 15 m. (48 %) llegando a provocar a este nivel una mortalidad -- superior al 95 %, siendo el  $\text{pH}$  medio de aquéllas de 8,49. Su -- carácter menos tóxico que los demás compuestos a  $\overline{\text{pHs}}$  equivalentes tienen que ser debido a su naturaleza no electrolítica.

Hemos utilizado en estos comentarios, como unidad de dosis, la concentración molal de las soluciones, justificado como ya se dijo, porque la correlación obtenida en este caso es --

Análisis de probits en huevos de Ceratitis capitata (Wied.) tratados con diversas soluciones de productos químicos a diferentes pH.

Y= Probit correspondiente a una determinada dosis logarítmica X;  $X = \log_{10} \lambda$ , siendo  $\lambda$  la unidad de dosis elegida;  $Y_{obs}$  = Probit observado;  $\chi^2$  = Factor de heterogeneidad; n= nº de grados de libertad; P= nivel de significación;  $DL_{90}$  es la dosis necesaria para producir el 90% de mortalidad en la población, llamada comúnmente dosis letal al 90%;  $\Pi$  = Presión osmótica, en atm.; N= normalidad; c= molaridad;  $a_m$  = actividad molar; r= coeficiente de correlación lineal;

\* Significativo al 95%; \*\* Significativo al 99% según las tablas de correlación (Fisher, R.A y Yates, F. 1.963).

Glucosa  
=====

	Ecuación de probit	r ( $Y_{obs} - X$ )	$\chi^2$	n	P	$DL_{90}$	Intervalo de confianza de la $DL_{90}$ Limite inferior	Limite superior
%	$Y=1,66725+0,63537X$	0,68502*	225,48	7	99,99628	0,18.10 <sup>8</sup>	0,16.10 <sup>6</sup>	0,20.10 <sup>10</sup>
$\Pi$	$Y=2,24409+0,58191X$	0,73575*	200,47	7	99,98315	0,87.10 <sup>7</sup>	0,64.10 <sup>5</sup>	0,12.10 <sup>10</sup>
c	$Y=3,10076+0,63269X$	0,68389*	226,09	7	99,99640	0,11.10 <sup>6</sup>	0,92.10 <sup>3</sup>	0,12.10 <sup>8</sup>
m	$Y=3,03995+0,51814X$	0,70586*	212,83	7	99,99199	0,18.10 <sup>7</sup>	0,67.10 <sup>4</sup>	0,48.10 <sup>9</sup>

T A B L A XXXV (Continuación)

C1 L1  $\overline{pH} = 0,96$   
 =====

	Ecuación de probit	r (Yobs - X)	$\chi^2$	n	P	DL <sub>90</sub>	Intervalo de confianza de la DL <sub>90</sub> al 95% Limite inferior      Limite superior
%	Y = -4,06635 + 4,75430X	0,95778**	513,88	4	100,00000	150,17	140,20      160,84
π	Y = -2,76269 + 3,80342X	0,96896**	398,06	4	100,00000	238,76	218,91      260,42
N	Y = 3,67717 + 4,73546X	0,95721**	517,64	4	100,00000	3,55	3,31      3,80
m	Y = 3,60084 + 4,38987X	0,96186**	472,04	4	100,00000	4,08	3,79      4,40

C1 L1  $\overline{pH} = 4,00$   
 =====

%	Y = -5,12838 + 5,21407X	0,96150**	653,88	4	100,00000	154,29	145,59      163,51
π	Y = -3,59366 + 4,11245X	0,97054**	523,88	4	100,00000	251,96	234,01      271,30
N	Y = 3,36137 + 5,20147X	0,96098**	661,24	4	100,00000	3,64	3,44      3,86
m	Y = 3,27989 + 4,79626X	0,96508**	605,96	4	100,00000	4,22	3,97      4,50

T A B L A XXXV (Continuación)

Cl Li  $\bar{p}\bar{H}$  = 5,73  
 =====

	Ecuación de probit	$r$ ( $Y_{obs} - X$ )	$\chi^2$	$n$	P	DL <sub>90</sub>	Intervalo de confianza de la DL <sub>90</sub> Limite inferior	Limite superior
%o	Y = -1,99001 + 3,76714X	0,98190**	1317,42	6	100,00000	156,95	148,64	165,73
Π	Y = -1,11576 + 3,08251X	0,98749**	904,38	6	100,00000	251,09	234,93	268,36
N	Y = 4,14508 + 3,75593X	0,98169**	1320,06	6	100,00000	3,70	3,51	3,91
m	Y = 407817 + 3,49850X	0,98441**	1126,68	6	100,00000	4,26	4,02	4,52
a <sub>m</sub>	Y = 4,34676 + 1,28583X	0,99321**	474,35	6	100,00000	31,98	27,20	37,60

Cl Li  $\bar{p}\bar{H}$  = 10,37  
 =====

%o	Y = 1,23914 + 2,12057X	0,89120*	1195,92	4	100,00000	238,75	204,59	278,61
Π	Y = 1,44604 + 1,87721X	0,91229*	990,12	4	100,00000	376,70	317,17	447,74
N	Y = 469478 + 2,10266X	0,89008*	1209,56	4	100,00000	5,68	4,86	6,64
m	Y = 4,63366 + 2,03311X	0,89869*	1122,60	4	100,00000	6,46	5,51	7,59

T A B L A XXXV (Continuación)

CI L1  $\bar{p}II= 12,55$   
 =====

	Ecuación de probit	$r$ (Yobs - X)	$\chi^2$	n	P	DL <sub>90</sub>	Intervalo de confianza de la DL <sub>90</sub> <u>Limite inferior</u>	<u>Limite superior</u>
%o	Y= 4,52128+1,25348X	0,95845**	342,18	4	100,00000	25,38	21,05	30,59
Π	Y= 4,46933+1,24237X	0,96277**	302,21	4	100,00000	28,76	23,77	34,80
N	Y= 6,57204+1,27061X	0,96058**	323,66	4	100,00000	0,59	0,49	0,71
m	Y= 6,54304+1,24508X	0,95944**	332,04	4	100,00000	0,62	0,51	0,74

CI Na  $\bar{p}II= 1,02$   
 =====

%o	Y=-12,39614+7,84259X	0,99279**	201,77	6	99,99921	240,77	234,15	247,57
Π	Y=- 8,38708+6,15511X	0,99370**	172,13	6	99,99301	241,65	233,16	250,46
N	Y= 1,47074+7,82261X	0,99275**	202,55	6	99,99924	4,12	4,01	4,24
m	Y= 1,58202+6,41973X	0,99374**	169,68	6	99,99167	5,40	5,21	5,58

T A B L A XXXV (Continuación)

CI Na  $\bar{pH}=4,01$   
 =====

	Ecuación de probit	r (Yobs - X)	$\chi^2$	n	P	DL <sub>90</sub>	Intervalo de confianz de la DL <sub>90</sub> Limite inferior	Limite superior
%	Y=-1,62844+2,85561X	0,96131**	598,36	4	100,00000	588,91	480,00	722,53
Π	Y=-0,73689+2,49106X	0,96995**	405,48	4	100,00000	656,94	524,38	823,01
N	Y= 3,42027+2,84953X	0,96120**	601,64	4	100,00000	10,10	8,22	12,40
m	Y= 3,33957+2,52264X	0,96898**	435,12	4	100,00000	14,67	11,71	18,37

CI Na  $\bar{pH}=5,79$   
 =====

%	Y=-14,22066+8,45775X	0,97695**	693,80	5	100,00000	265,52	258,24	273,00
Π	Y=- 9,83882+6,61238X	0,97902**	608,25	5	100,00000	274,12	264,51	284,07
N	Y= 0,72871+8,44628X	0,97656**	703,40	5	100,00000	4,54	4,42	4,67
m	Y= 0,87506+6,89114X	0,97909**	594,35	5	100,00000	6,09	5,88	6,30
a <sub>m</sub>	Y= 2,56374+2,42509X	0,98470**	386,50	5	99,99998	34,13	30,89	37,71

T A B L A XXXV (Continuación)

CL Na  $\overline{pH}$  = 10,66  
 =====

	Ecuación de probit	r (Yobs - X)	$\chi^2$	n	P	DL <sub>90</sub>	Intervalo de confianza de la DL <sub>90</sub> Limite inferior	Limite superior
%	Y = -8,17943 + 5,91240X	0,99759**	1315,50	6	100,00000	279,19	264,90	294,25
Π	Y = -5,50457 + 4,79119X	0,99822**	277,07	6	99,99997	288,40	270,38	307,62
N	Y = 2,26906 + 5,90681X	0,99765**	1382,16	6	100,00000	4,78	4,53	5,04
m	Y = 2,27085 + 4,96654X	0,99825**	528,99	6	100,00000	6,42	6,03	6,83

CL Na  $\overline{pH}$  = 12,78  
 =====

%	Y = 2,78901 + 1,39827X	0,95759**	345,79	6	99,99998	314,70	267,53	370,18
Π	Y = 3,10597 + 1,27974X	0,97007**	261,29	6	99,99997	303,08	253,88	361,82
N	Y = 5,26150 + 1,39320X	0,95710**	348,56	6	99,99998	5,40	4,59	6,35
m	Y = 5,20863 + 1,27612X	0,96485**	288,43	6	99,99997	6,93	5,80	8,28

T A B L A XXXV (Continuación)

CL K  $\overline{pH}=1,21$   
=====

	Ecuación de probit	$r$ ( $Y_{obs} - X$ )	$\chi^2$	n	P	DL <sub>90</sub>	Intervalo de confianza de la DL <sub>90</sub> Limite inferior	Limite superior
%o	Y=-2,45028+3,05602X	0,98986**	41,72	4	96,62459	719,97	551,22	940,38
Π	Y=-1,42004+2,86309X	0,99152**	37,41	4	94,71510	489,79	369,60	649,06
N	Y= 3,27232+3,05474X	0,98968**	42,74	4	96,96677	9,66	7,40	12,62
m	Y= 3,19551+2,63471X	0,99293**	34,21	4	92,66695	14,84	10,96	20,09

CL K  $\overline{pH}= 4,22$   
=====

%o	Y=-3,78867+3,64543X	0,95746**	1048,92	4	100,00000	578,72	459,83	728,35
Π	Y=-2,64012+3,45488X	0,96197**	940,56	4	100,00000	382,28	301,28	485,06
N	Y= 3,03395+3,65389X	0,95771**	1032,40	4	100,00000	7,74	6,16	9,73
m	Y= 2,91662+3,20760X	0,96606**	854,76	4	100,00000	11,20	8,70	14,41

T A B L A XXXV (Continuación)

CI K  $\bar{pH} = 6,84$   
 =====

	Ecuación de probit	r (Yobs - X)	$\chi^2$	n	P	DL <sub>90</sub>	Intervalo de confianza de la DL <sub>90</sub> Limite inferior	Limite superior
%	Y=-2,30238+2,98479X	0,92100**	459,44	4	100,00000	751,53	588,77	959,29
$\Pi$	Y=-1,36716+2,83242X	0,92816**	420,52	4	100,00000	501,74	389,55	646,23
N	Y= 3,28592+2,98624X	0,92033**	456,12	4	100,00000	10,07	7,89	12,85
m	Y= 3,18878+2,63333X	0,93410**	389,17	4	100,00000	14,95	11,42	19,55
a <sub>m</sub>	Y= 3,79799+1,38077X	0,94546**	325,11	4	100,00000	62,92	38,22	103,58

CI K  $\bar{pH} = 10,00$   
 =====

%	Y=-2,00285+2,88065X	0,90140*	349,12	4	100,00000	751,51	560,20	1008,20
$\Pi$	Y=-1,09259+2,72913X	0,90691*	328,10	4	100,00000	503,59	371,04	683,49
N	Y= 3,38984+2,88385X	0,90169*	347,34	4	100,00000	10,06	7,50	13,49
m	Y= 3,29721+2,53431X	0,91201*	310,32	4	100,00000	15,05	10,88	20,83

T A B L A XXXV (Continuación)

C1 K  $\bar{pH}=12,00$   
 =====

	Ecuación de probit	r (Yobs - X)	$\chi^2$	n	P	DL <sub>90</sub>	Intervalo de confianza de la DL <sub>90</sub> Limite inferior	Limite superior
%	Y=-2,12989+2,92564X	0,92792**	307,70	4	99,99998	750,13	561,24	1002,60
$\Pi$	Y=-1,21473+2,77689X	0,93048**	280,50	4	99,99998	500,70	370,61	676,47
N	Y= 3,34725+2,92826X	0,92725**	305,18	4	99,99998	10,05	7,52	13,42
m	Y= 3,25141+2,58207X	0,93927**	258,57	4	99,99998	14,91	10,83	20,53

C1<sub>2</sub> Ca  $\bar{pH}= 0,99$   
 =====

%	Y=-1,51234+2,44180X	0,94000**	100,68	4	99,99533	1555,70	945,54	2559,70
$\Pi$	Y= 0,70721+1,47290X	0,95109**	81,46	4	99,95770	6091,40	2718,40	13,650,00
N	Y= 2,74764+2,44235X	0,94001**	100,68	4	99,99533	27,99	17,01	46,04
c	Y= 3,48286+2,44232X	0,94001**	100,68	4	99,99533	13,98	8,51	23,02
m	Y= 3,37211+2,04660X	0,95145**	83,39	4	99,96603	26,40	14,74	47,28

T A B L A XXXV (Continuación)

Cl<sub>2</sub>Ca  $\overline{pH}$  = 4,09  
=====

	Ecuación de probit	$r$ (Yobs - X)	$\chi^2$	n	P	DL <sub>90</sub>	Intervalo de confianza de la DL <sub>90</sub> Limite inferior	Limite superior AL 95%
%o	Y = -7,56396 + 5,20204X	0,97055**	682,64	4	100,00000	458,75	407,53	516,43
π	Y = -2,74693 + 3,10021X	0,97662**	516,80	4	100,00000	817,09	673,99	990,58
N	Y = 1,51212 + 5,20216X	0,97055**	682,76	4	100,00000	8,26	7,33	9,29
c	Y = 3,07815 + 5,20208X	0,97055**	682,68	4	100,00000	4,13	3,67	4,65
m	Y = 2,86012 + 4,31426X	0,97653**	555,48	4	100,00000	6,21	5,40	7,14

Cl<sub>2</sub>Ca  $\overline{pH}$  = 8,26  
=====

%o	Y = -10,19737 + 6,57264X	0,96339**	856,52	4	100,00000	321,53	301,40	343,01
π	Y = -4,13748 + 3,93484X	0,97020**	602,80	4	100,00000	444,56	399,92	494,19
N	Y = 1,27020 + 6,57246X	0,96339**	856,52	4	100,00000	5,79	5,42	6,17
c	Y = 3,24868 + 6,56256X	0,96339**	856,56	4	100,00000	2,89	2,79	3,09
m	Y = 2,97322 + 5,49146X	0,97010**	673,00	4	100,00000	4,00	3,71	4,32
a <sub>m</sub>	Y = 3,39115 + 0,89212X	0,98254**	196,14	4	100,00000	1738,30	1104,40	2736,10

T A B L A XXXV (Continuación)

NO<sub>3</sub>Li  $\overline{\text{pH}}= 1,03$   
 =====

	Ecuación de probit	$r$ ( $Y_{\text{obs}} - X$ )	$\chi^2$	n	P	DL <sub>90</sub>	Intervalo de confianza de la DL <sub>90</sub> Limite inferior	Limite superior
%	Y=-2,21282+3,61917X	0,97154**	398,09	4	100,00000	222,38	204,70	241,59
Π	Y=-0,83981+3,11278X	0,97717**	329,38	4	100,00000	194,02	176,12	213,74
N	Y= 4,44150+3,61920X	0,97154**	398,09	4	100,00000	3,22	2,97	3,50
m	Y= 4,32639+3,24345X	0,97615**	342,82	4	100,00000	4,01	3,65	4,40

NO<sub>3</sub>Li  $\overline{\text{pH}}= 3,97$   
 =====

%	Y=-2,84426+3,85523X	0,97436**	445,12	4	100,00000	232,90	214,93	252,38
Π	Y=-1,36035+3,30453X	0,98035**	350,60	4	100,00000	205,40	187,00	225,61
N	Y= 4,24408+3,85522X	0,97436**	445,12	4	100,00000	3,38	3,12	3,66
m	Y= 4,12405+3,44385X	0,97899**	373,41	4	100,00000	4,23	3,87	4,63

T A B L A XXXV (Continuación)

NO<sub>3</sub>Li  $\overline{\text{pH}}= 5,74$   
 =====

	Ecuación de probit	r (Yobs - X)	$\chi^2$	n	P	DL <sub>90</sub>	Intervalo de confianza de la DL <sub>90</sub> Limite inferior	Limite superior
%	Y=-0,83876+2,95699X	0,92019**	523,60	4	100,00000	255,87	228,25	286,83
Π	Y= 0,23003+2,57062X	0,93284**	453,08	4	100,00000	226,04	198,30	257,66
N	Y= 4,59808+2,95683X	0,92019**	523,60	4	100,00000	3,71	3,31	4,16
m	Y= 4,49888+2,67051X	0,92954**	470,72	4	100,00000	4,65	4,10	5,28
a <sub>m</sub>	Y= 4,75054+1,12301X	0,95134**	341,01	4	100,00000	23,09	17,11	31,17

NO<sub>3</sub>Li  $\overline{\text{pH}}= 10,19$   
 =====

%	Y=-2,07628+3,51019X	0,95423**	1006,35	5	100,00000	240,47	223,94	258,23
Π	Y=-0,72131+3,00228X	0,96314**	835,30	5	100,00000	215,07	197,76	233,88
N	Y= 4,37777+3,50980X	0,95422**	1006,35	5	100,00000	3,49	3,25	3,74
m	Y= 4,26329+3,12456X	0,96149**	867,70	5	100,00000	4,42	4,08	4,80

T A B L A XXXV (Continuación)

NO<sub>3</sub>Li  $\bar{pH}$  = 12,27  
 =====

	Ecuación de probit	r (Yobs - X)	$\chi^2$	n	P	DL <sub>90</sub>	Intervalo de confianza de la DL <sub>90</sub> al 95% Limite inferior Limite superior
%o	Y = 3,75170+1,45362X	0,98135**	264,92	4	99,999998	55,02	45,78 66,11
Π	Y = 3,85083+1,55187X	0,98544**	223,22	4	99,999998	36,85	30,99 43,82
N	Y = 6,41942+1,42845X	0,98099**	269,25	4	99,999998	0,80	0,66 0,96
m	Y = 6,39075+1,39996X	0,98222**	256,46	4	99,999998	0,83	0,69 1,01

NO<sub>3</sub>Na  $\bar{pH}$  = 1,27  
 =====

%o	Y = -2,10073+3,11839X	0,94396**	928,60	5	100,000000	487,60	443,77 535,76
Π	Y = -1,37340+3,27357X	0,93218**	1070,60	5	100,000000	218,00	199,22 238,56
N	Y = 3,91770+3,12247X	0,94404**	927,35	5	100,000000	5,72	5,20 6,28
m	Y = 3,80113+2,59655X	0,95826**	691,85	5	100,000000	9,02	8,06 10,09

T A B L A XXXV (Continuación)

NO<sub>3</sub>Na  $\bar{pH}$  = 3,92  
 =====

	Ecuación de probit	r (Yobs - X)	$\chi^2$	n	P	DL <sub>90</sub>	Intervalo de confianza de la DL <sub>90</sub> <u>Limite inferior</u> <u>Limite superior</u>
%o	Y=-4,64671+4,15301X	0,97890**	330,22	5	99,999998	428,00	395,78      462,85
Π	Y=-3,85070+4,45294X	0,97674**	366,93	5	99,999998	188,56	175,28      202,84
N	Y= 3,36874+4,15115X	0,97901**	329,09	5	99,999998	5,03	4,65      5,44
m	Y= 3,31053+3,32574X	0,98565**	211,58	5	99,999997	7,82	7,09      8,63

NO<sub>3</sub>Na  $\bar{pH}$  = 5,70  
 3  
 =====

%o.	Y=-4,19449+3,79761X	0,98193**	4680,24	6	100,00000	573,63	525,11      626,64
Π	Y=-3,44649+4,06245X	0,97883**	5529,06	6	100,00000	248,12	228,31      269,66
N	Y= 3,13476+3,79758X	0,98193**	4678,56	6	100,00000	6,74	6,17      7,36
m	Y= 3,06022+3,07192X	0,99092**	2197,80	6	100,00000	11,19	10,05      12,44
a <sub>m</sub>	Y= 4,08511+1,93378X	0,98889**	2575,20	6	100,00000	13,67	11,54      16,20

T A B L A XXXV (Continuación)

NO<sub>3</sub>Na  $\bar{pH} = 10,55$   
 =====

	Ecuación de probit	$r$ (Yobs -X)	$\chi^2$	n	P	DL <sub>90</sub>	Intervalo de confianza de la DL <sub>90</sub> Limite inferior	Limite superior	
%	Y=-6,99783+5,15372X	0,99145**	327,96	5	99,999998	377,31	355,58	400,36	
Π	Y=-6,04963+5,54600X	0,99071**	370,21	5	99,999998	167,29	158,34	176,74	
N	Y= 2,94891+5,15146X	0,99153**	326,20	5	99,999998	4,43	4,18	4,71	
m	Y= 2,90357+4,07244X	0,99342**	212,63	5	99,999997	6,75	6,26	7,29	
<p>NO<sub>3</sub>Na <math>\bar{pH} = 12,63</math>                  =====</p>									
%	Y= 0,03812+2,54867X	0,97936**	231,68	4	99,999998	281,68	250,36	316,92	
Π	Y= 0,67437+2,64872X	0,97641**	263,42	4	99,999998	130,92	116,93	146,58	
N	Y= 4,95730+2,55186X	0,97926**	232,62	4	99,999998	3,30	2,94	3,72	
m	Y= 4,84280+2,22081X	0,98534**	175,69	4	99,999998	4,44	3,87	5,10	

T A B L A XXXV (Continuación)

NO<sub>2</sub>K  $\bar{pH}$  = 1,21  
 =====

	Ecuación de probit	$r$ (Yobs - X)	$\chi^2$	n	P	DL <sub>90</sub>	Intervalo de confianza de la DL <sub>90</sub>
							Limite inferior superior
%o	Y= 2,98271+0,35092X	0,86025	4,71	3	33,42212	0,25.10 <sup>10</sup>	0,04 0,16.10 <sup>21</sup>
Π	Y= 3,02940+0,42366X	0,87630	4,17	3	29,20866	0,47.10 <sup>8</sup>	0,07 0,30.10 <sup>17</sup>
N	Y= 3,68664+0,34916X	0,86301	4,62	3	32,71864	0,27.10 <sup>8</sup>	0,40.10 <sup>-3</sup> 0,18.10 <sup>19</sup>
m	Y= 3,66951+0,31127X	0,85046	5,05	3	35,90706	0,25.10 <sup>9</sup>	0,12.10 <sup>-3</sup> 0,50.10 <sup>21</sup>

NO<sub>2</sub>K  $\bar{pH}$  = 4,01  
 =====

%o	Y= 2,76262+0,37167X	0,57331	29,30	3	97,93388	0,29.10 <sup>10</sup>	0,01 0,79.10 <sup>21</sup>
Π	Y= 2,83851+0,43204X	0,56397	29,62	3	98,03145	0,93.10 <sup>8</sup>	0,86.10 <sup>-2</sup> 0,10.10 <sup>19</sup>
N	Y= 3,50823+0,36835X	0,57338	29,29	3	97,93153	0,34.10 <sup>8</sup>	0,96.10 <sup>-4</sup> 0,12.10 <sup>20</sup>
m	Y= 3,48924+0,33744X	0,57909	29,10	3	97,86940	0,19.10 <sup>9</sup>	0,69.10 <sup>-4</sup> 0,51.10 <sup>24</sup>

T A B L A XXXV (Continuación)

NO<sub>3</sub>X  $\overline{\text{pH}}=5,96$   
 =====

	Ecuación de probit	r (Yobs - X)	$\chi^2$	n	P	DL <sub>90</sub>	Intervalo de confianza I de la DL <sub>90</sub> Limite inferior	Limite superior
%	Y= 2,78899+0,42229X	0,89105*	20,98	3	92,78703	0,19.10 <sup>9</sup>	0,01	0,31.10 <sup>17</sup>
Π	Y= 2,88570+0,48303X	0,88744*	21,52	3	93,34480	0,11.10 <sup>8</sup>	0,49	0,23.10 <sup>15</sup>
N	Y= 3,63604+0,41703X	0,89045*	21,06	3	92,87959	0,22.10 <sup>7</sup>	0,97.10 <sup>-2</sup>	0,50.10 <sup>15</sup>
m	Y= 3,61542+0,38704X	0,89327*	20,65	3	92,42749	0,77.10 <sup>7</sup>	0,01	0,58.10 <sup>16</sup>
a <sub>m</sub>	Y= 3,81441+0,26575X	0,88053*	22,49	3	94,23650	0,19.10 <sup>10</sup>	0,30.10 <sup>-4</sup>	0,12.10 <sup>24</sup>

NO<sub>3</sub>K  $\overline{\text{pH}}=10,07$   
 =====

%	Y= 2,42417+0,57938X	0,82929	16,57	3	86,26994	0,45.10 <sup>7</sup>	0,17.10 <sup>3</sup>	0,12.10 <sup>12</sup>
Π	Y= 2,54893+0,66954X	0,80697	18,25	3	89,23587	0,38.10 <sup>6</sup>	42,58	0,33.10 <sup>10</sup>
N	Y= 3,58655+0,57253X	0,82636	16,79	3	86,70651	0,51.10 <sup>5</sup>	1,51	0,16.10 <sup>10</sup>
m	Y= 3,55667+0,52661X	0,84121	15,64	3	84,31125	0,15.10 <sup>6</sup>	2,32	0,96.10 <sup>10</sup>

T A B L A XXXV (Continuación)

NO<sub>3</sub>K  $\bar{pH}$ = 12,00  
=====

	Ecuación de probit	r (Yobs - X)	$\chi^2$	n	P	DL <sub>90</sub>	Intervalo de confianza de la DL <sub>90</sub> Limite inferior	Limite superior	Intervalo de confianza al 95% Limite superior
%	Y= 2,18550+0,89523X	0,91170*	23,24	3	94,84282	0,38.10 <sup>5</sup>	0,18.10 <sup>4</sup>	0,79.10 <sup>6</sup>	
π	Y= 2,33717+0,06019X	0,90568*	23,86	3	95,30135	0,52.10 <sup>4</sup>	0,39.10 <sup>3</sup>	0,70.10 <sup>5</sup>	
N	Y= 3,98136+0,88824X	0,91154*	23,18	3	94,80087	0,39.10 <sup>3</sup>	0,18.10 <sup>2</sup>	0,84.10 <sup>4</sup>	
m	Y= 3,93681+0,80267X	0,91437*	23,08	3	94,72531	0,83.10 <sup>3</sup>	0,28.10 <sup>2</sup>	0,25.10 <sup>5</sup>	

(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Ca  $\bar{pH}$ = 0,92  
=====

%	Y=-4,86331+4,10252X	0,96207**	966,80	4	100,00000	520,75	479,55	565,49	
π	Y=-1,80872+3,31527X	0,97204**	740,92	4	100,00000	275,65	249,21	304,89	
N	Y= 2,99596+4,09259X	0,96194**	973,52	4	100,00000	6,35	5,85	6,90	
c	Y= 4,22462+4,10902X	0,96252**	947,80	4	100,00000	3,17	2,92	3,44	
m	Y= 3,91327+3,20549X	0,97635**	662,56	4	100,00000	5,48	4,94	6,08	

T A B L A XXXV (Continuación)

(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Ca  $\bar{p}\bar{I}$ = 3,89  
=====

	Ecuación de probit E	$r$ (Yobs - X)	$\chi^2$	n	P	DL <sub>90</sub>	Intervalo de confianza de la DL <sub>90</sub> Limite inferior	Limite superior
%	Y=-6,91291+4,84270X	0,97358**	1346,84	4	100,00000	530,45	492,07	571,81
π	Y=-3,13685+3,83171X	0,98073**	893,52	4	100,00000	287,12	261,58	315,15
N	Y= 2,36257+4,83443X	0,97360**	1363,52	4	100,00000	6,47	6,00	6,97
c	Y= 3,81665+4,84132X	0,97359**	1300,40	4	100,00000	3,23	3,00	3,48
m	Y= 3,48711+3,67693X	0,98470**	757,42	4	100,00000	5,75	5,22	6,34
(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Ca $\bar{p}\bar{I}$ = 4,46 =====								
%	Y=-4,11710+3,75744X	0,93965**	857,08	4	100,00000	585,50	535,40	640,28
π	Y=-1,32694+3,04043X	0,95579**	647,36	4	100,00000	318,05	285,23	354,66
N	Y= 3,08081+3,74861X	0,93932**	863,36	4	100,00000	7,14	6,53	7,81
c	Y= 4,20665+3,76368X	0,94055**	840,28	4	100,00000	3,56	3,25	3,89
m	Y= 3,91855+2,94277X	0,96248**	571,80	4	100,00000	6,35	5,68	7,11
a <sub>m</sub>	Y= 4,61290+0,88314X	0,97942**	265,23	4	99,99998	77,56	53,03	113,44

T A B L A XXXV (Continuación)

SO<sub>4</sub>Li<sub>2</sub>  $\bar{pH}$  = 1,89  
=====

	Ecuación de probit	$r$ (Y <sub>obs</sub> - X)	$\chi^2$	n	P	DL <sub>90</sub>	Intervalo de confianza de la DL <sub>90</sub> Limite inferior	Limite superior
%o	Y = -2,32882 + 2,95152X	0,89886*	252,25	4	99,99998	826,66	641,05	1066,00
N	Y = 2,81214 + 2,94411X	0,89801*	255,15	4	99,99998	15,08	11,69	19,47
c	Y = 3,69512 + 2,95701X	0,90071*	248,63	4	99,99998	7,49	5,82	9,65
m	Y = 3,56162 + 2,48897X	0,91740**	212,11	4	99,99998	12,38	9,21	16,64

SO<sub>4</sub>Li<sub>2</sub>  $\bar{pH}$  = 3,91  
=====

%o	Y = 0,98621 + 1,27832X	0,94445**	35,80	4	93,76170	0,14 · 10 <sup>5</sup>	0,28 · 10 <sup>4</sup>	0,69 · 10 <sup>5</sup>
N	Y = 3,21046 + 1,27939X	0,94487**	35,47	4	93,54857	257,51	508,66	1243,60
c	Y = 3,59660 + 1,27366X	0,94453**	35,95	4	93,85777	128,29	25,68	640,85
m	Y = 3,52668 + 1,10664X	0,94399**	33,73	4	92,30125	308,71	49,96	5273,50

T A B L A XXXV (Continuación)

SO<sub>4</sub>Li<sub>2</sub>       $\bar{pH}=5,58$   
 =====

	Ecuación de probit	$r$ ( $Y_{obs} - Y$ )	$\chi^2$	n	P	DL <sub>90</sub>	Intervalo de confianza de la DL <sub>90</sub> <u>Limite inferior</u>	<u>Limite superior</u>
%o	Y= 0,64129+2,39466X	0,88661*	571,04	4	100,00000	778,08	602,33	1005,10
N	Y= 3,52543+2,39682X	0,88689*	567,36	4	100,00000	14,12	10,94	18,23
c	Y= 4,24886+2,38461X	0,88670*	575,60	4	100,00000	7,12	5,50	9,21
m	Y= 4,11030+2,13471X	0,90990*	482,00	4	100,00000	10,40	7,87	13,75
a <sub>m</sub>	Y= 4,89133+0,79679X	0,96158**	248,86	4	99,99998	55,59	27,58	112,04

SO<sub>4</sub>Li<sub>2</sub>       $\bar{pH}=9,78$   
 =====

%o	Y= 1,82937+1,10673X	0,85620*	73,09	4	99,89078	0,10.10 <sup>5</sup>	0,31.10 <sup>4</sup>	0,36.10 <sup>5</sup>
N	Y= 3,75520+1,10760X	0,85657*	72,87	4	99,88808	191,02	56,56	645,09
c	Y= 4,08930+1,10201X	0,85611*	73,23	4	99,89250	97,60	28,68	332,19
m	Y= 4,02569+0,98188X	0,88820*	59,03	4	99,47661	198,46	51,56	763,84

T A B L A XXXV (Continuación)

$\text{SO}_4\text{Li}_2$   $\overline{\text{pH}} = 12,32$   
=====

	Ecuación de probit	r (Yobs - X)	$\chi^2$	n	P	DL <sub>90</sub>	Intervalo de confianza de la DL <sub>90</sub> Limite inferior	Limite superior
%o	Y= 1,25320+3,04366X	0,99892**	56,41	3	99,96997	44,89	40,12	50,22
N	Y= 6,55029+3,02670X	0,99894**	56,05	3	99,96817	0,81	0,73	0,91
c	Y= 7,41032+2,93272X	0,99823**	86,28	3	99,99974	0,41	0,37	0,46
m	Y= 7,32466+2,85333X	0,99850**	74,21	3	99,99823	0,43	0,38	0,48

$\text{SO}_4\text{Na}_2$   $\overline{\text{pH}} = 1,64$   
=====

%o	Y= 2,99912+0,30870X	0,74952	52,88	5	93,95309	0,43.10 <sup>11</sup>	0,87.10 <sup>4</sup>	0,21.10 <sup>18</sup>
Π	Y= 3,09556+0,33860X	0,75632*	51,86	5	93,46516	0,26.10 <sup>10</sup>	0,23.10 <sup>4</sup>	0,28.10 <sup>16</sup>
N	Y= 3,57090+0,30801X	0,74932	52,92	5	93,97118	0,63.10 <sup>9</sup>	0,12.10 <sup>3</sup>	0,32.10 <sup>16</sup>
c	Y= 3,66376+0,30766X	0,74878	52,94	5	93,98276	0,32.10 <sup>9</sup>	0,62.10 <sup>2</sup>	0,17.10 <sup>16</sup>
m	Y= 3,64117+0,28048X	0,76785*	50,08	5	92,52188	0,26.10 <sup>10</sup>	0,17.10 <sup>3</sup>	0,38.10 <sup>17</sup>

T A B L A XXXV (Continuación)

SO<sub>4</sub>Na<sub>2</sub>       $\overline{\text{pH}} = 4,06$   
 =====

	Ecuación de probit	$r$ (Y <sub>obs</sub> - X)	$\chi^2$	n	P	DL <sub>90</sub>	Intervalo de confianza de la DL <sub>90</sub> AL 95 % Limite inferior      Limite superior
%o	Y = 1,88641+0,60436X	0,91173*	8,61	4	29,23647	0,19.10 <sup>8</sup>	0,94.10 <sup>3</sup> 0,37.10 <sup>12</sup>
Π	Y = 2,07837+0,66204X	0,91063*	8,67	4	29,49236	0,22.10 <sup>7</sup>	0,27.10 <sup>3</sup> 0,19.10 <sup>11</sup>
N	Y = 3,00565+0,60305X	0,91212*	8,55	4	28,97009	0,27.10 <sup>6</sup>	0,13.10 <sup>2</sup> 0,55.10 <sup>10</sup>
c	Y = 3,18740+0,60149X	0,91106*	8,68	4	29,54076	0,14.10 <sup>6</sup>	0,66.10 <sup>1</sup> 0,29.10 <sup>10</sup>
m	Y = 3,14803+0,54398X	0,90329*	9,28	4	32,27609	0,58.10 <sup>6</sup>	0,94.10 <sup>1</sup> 0,35.10 <sup>11</sup>

SO<sub>4</sub>Na<sub>2</sub>       $\overline{\text{pH}} = 5,27$   
 =====

%o	Y = 0,11265+1,49225X	0,93202**	43,55	4	97,21268	0,14.10 <sup>5</sup>	0,34.10 <sup>4</sup> 0,54.10 <sup>5</sup>
Π	Y = 0,82076+1,49653X	0,92083**	48,64	4	98,38007	0,44.10 <sup>4</sup>	0,11.10 <sup>4</sup> 0,18.10 <sup>5</sup>
N	Y = 2,87487+1,49329X	0,93155**	43,87	4	97,30653	0,19.10 <sup>3</sup>	0,48.10 <sup>2</sup> 0,76.10 <sup>3</sup>
c	Y = 3,32579+1,48695X	0,93150**	43,84	4	97,29962	0,97.10 <sup>2</sup>	0,24.10 <sup>2</sup> 0,39.10 <sup>3</sup>
m	Y = 3,24757+1,13526X	0,91848**	50,45	4	98,66620	0,47.10 <sup>3</sup>	0,76.10 <sup>2</sup> 0,29.10 <sup>4</sup>
a <sub>m</sub>	Y = 4,05210+0,50887X	0,88001*	66,19	4	99,76346	0,24.10 <sup>5</sup>	0,39.10 <sup>3</sup> 0,15.10 <sup>7</sup>

T A B L A XXXV (Continuación)

SO<sub>4</sub>Na<sub>2</sub>       $\overline{pH} = 10,05$   
 =====

	Ecuación de probit	$r$ (Yobs - X)	$\chi^2$	n	P	DL <sub>90</sub>	Intervalo de confianza de la DL <sub>90</sub> Limite inferior	Limite superior
%	Y= 2,64114+0,36421X	0,81555*	16,90	4	62,35873	0,99.10 <sup>10</sup>	0,73.10 <sup>2</sup>	0,13.10 <sup>19</sup>
Π	Y= 2,75865+0,39774X	0,81279*	17,12	4	63,05876	0,72.10 <sup>9</sup>	0,24.10 <sup>2</sup>	0,21.10 <sup>17</sup>
N	Y= 3,31569+0,36310X	0,81563*	16,90	4	62,37553	0,15.10 <sup>9</sup>	0,10.10 <sup>1</sup>	0,21.10 <sup>17</sup>
c	Y= 3,42514+0,36244X	0,81472*	16,96	4	62,54597	0,76.10 <sup>8</sup>	0,50	0,11.10 <sup>17</sup>
m	Y= 3,40110+0,32672X	0,80579	17,58	4	64,47787	0,65.10 <sup>9</sup>	0,44	0,97.10 <sup>18</sup>

SO<sub>4</sub>Na<sub>2</sub>       $\overline{pH} = 12,81$   
 =====

%	Y= 1,67565+1,66346X	0,97885**	233,49	5	99,99998	587,47	484,97	711,62
Π	Y= 2,23405+1,80081X	0,97748**	251,18	5	99,99998	176,88	148,11	211,24
N	Y= 4,75649+1,65988X	0,97870**	284,29	5	99,99998	8,30	6,85	10,05
c	Y= 5,25744+1,65938X	0,97930**	228,99	5	99,99997	4,14	3,42	5,02
m	Y= 5,13734+1,45860X	0,97534**	281,77	5	99,99998	6,09	4,89	7,59

T A B L A XXXIV (Continuación)

SO K<sub>4</sub> 2  $\overline{pH}$  = 1,67  
=====

%	Ecuación de probit	r (Yobs - X)	$\chi^2$	n	P	DL <sub>90</sub>	Intervalo de confianza de la DL <sub>90</sub> al 95%	
							Limite inferior	Limite superior
‰	Y= 3,58841-0,00671X	0,02605	39,11	4	95,56786	sin	determinar	—
‰	Y= 3,59389-0,01584X	0,05361	38,94	4	95,48491	"	"	"
N	Y= 3,57322-0,01097X	0,04258	39,01	4	95,52080	"	"	"
c	Y= 3,57272-0,00754X	0,02889	39,10	4	95,56169	"	"	"
m	Y= 3,57247-0,00810X	0,03218	39,08	4	95,55186	"	"	"

SO K<sub>4</sub> 2  $\overline{pH}$  = 3,93  
=====

‰	Y= 3,37502-0,03999X	0,18805	20,89	4	73,47267	"	"	"
‰	Y= 3,36227-0,04663X	0,18971	20,84	4	73,37067	"	"	"
N	Y= 3,29807-0,03883X	0,18162	20,93	4	73,58508	"	"	"
c	Y= 3,28231-0,04393X	0,20405	20,73	4	73,10141	"	"	"
m	Y= 3,28747-0,03878X	0,18636	20,89	4	73,48010	"	"	"

T A B L A XXXV (Continuación)

$S_{4,K_2}$   $\bar{p}i = 6,58$   
 =====

	Ecuación de probit	$r$ (Yobs - X)	$\chi^2$	n	P	DL <sub>90</sub>	Intervalo de confianza de la DL <sub>90</sub> al 95% <u>Limite inferior</u> <u>Limite superior</u>
%o	Y= 3,06483+0,38356X	0,92889**	13,08	4	48,63678	0,24.10 <sup>9</sup>	0,31.10 <sup>5</sup> 0,19.10 <sup>13</sup>
Π	Y= 3,19954+0,43490X	0,91930**	15,21	4	56,67625	0,12.10 <sup>8</sup>	0,42.10 <sup>4</sup> 0,36.10 <sup>11</sup>
N	Y= 3,80883+0,38348X	0,92794**	13,38	4	49,82001	0,28.10 <sup>7</sup>	0,35.10 <sup>3</sup> 0,22.10 <sup>11</sup>
c	Y= 3,92484+0,38539X	0,92411**	14,24	4	53,13191	0,13.10 <sup>7</sup>	0,16.10 <sup>3</sup> 0,10.10 <sup>11</sup>
m	Y= 3,90523+0,37232X	0,92349**	14,09	4	52,55084	0,24.10 <sup>7</sup>	0,22.10 <sup>3</sup> 0,26.10 <sup>11</sup>
a <sub>m</sub>	Y= 4,16494+0,17785X	0,94642**	9,60	4	33,72520	0,80.10 <sup>12</sup>	0,39.10 <sup>4</sup> 0,16.10 <sup>21</sup>

T A B L A XXXV (Continuación)

SO<sub>4</sub>K<sub>2</sub>  $\overline{\text{pH}} = 10,13$   
=====

	Ecuación de probit	$r$ (Yobs - X)	$\chi^2$	n	P	DL <sub>90</sub>	Intervalo de confianza de la DL <sub>90</sub> al 95% Limite inferior      Limite superior
%o	Y= 3,00145+0,23148X	0,77499	20,28	4	71,98579	0,15.10 <sup>15</sup>	0,16.10 <sup>1</sup> 0,14.10 <sup>29</sup>
Π	Y= 3,08017+0,26485X	0,77544	20,51	4	72,55424	0,12.10 <sup>13</sup>	0,72      0,21.10 <sup>25</sup>
N	Y= 3,44912+0,22831X	0,76596	21,09	4	73,95688	0,25.10 <sup>13</sup>	0,11.10 <sup>-1</sup> 0,60.10 <sup>27</sup>
c	Y= 3,52342+0,23677X	0,78271	19,71	4	70,51187	0,45.10 <sup>12</sup>	0,14.10 <sup>-1</sup> 0,14.10 <sup>26</sup>
m	Y= 3,51032+0,22721X	0,77993	20,02	4	71,32112	0,16.10 <sup>13</sup>	0,11.10 <sup>-1</sup> 0,22.10 <sup>27</sup>

SO<sub>4</sub>K<sub>2</sub>  $\overline{\text{pH}} = 11,98$   
=====

%o	Y= 2,93616+0,52803X	0,92190**	27,00	4	85,02444	0,22.10 <sup>7</sup>	0,25.10 <sup>5</sup> 0,18.10 <sup>9</sup>
Π	Y= 3,12244+0,59816X	0,91301*	30,90	4	89,77905	0,19.10 <sup>6</sup>	0,37.10 <sup>4</sup> 0,99.10 <sup>7</sup>
N	Y= 3,96060+0,52840X	0,92187**	27,10	4	85,17648	0,25.10 <sup>5</sup>	0,29.10 <sup>3</sup> 0,21.10 <sup>7</sup>
c	Y= 4,12000+0,53022X	0,91766**	29,20	4	87,9122	0,12.10 <sup>5</sup>	0,14.10 <sup>3</sup> 0,10.10 <sup>7</sup>
m	Y= 4,09274+0,51182X	0,91577*	29,25	4	87,97295	0,19.10 <sup>5</sup>	0,19.10 <sup>3</sup> 0,19.10 <sup>7</sup>

T A B L A XXXV (Continuación)

Ac Na  $\overline{pH} = 4,95$   
=====

	Ecuación de probit	$r$ (Yobs - X)	$\chi^2$	n	P	DL <sub>90</sub>	Intervalo de confianza de la DL <sub>90</sub> Limite inferior	Limite superior
So	Y=-6,46373+5,69860X	0,97690**	994,40	4	100,00000	113,97	107,23	121,15
Π	Y=-4,22755+5,10950X	0,98055**	857,00	4	100,00000	172,42	163,15	182,22
N	Y= 4,44477+5,70696X	0,97763**	961,80	4	100,00000	2,10	1,99	2,22
m	Y=4,22831+5,23142X	0,98013**	875,56	4	100,00000	2,47	2,32	2,62

Ac Na  $\overline{pH} = 9,26$   
=====

So	Y=-7,99113+5,45915X	0,95812**	1251,10	5	100,00000	411,61	385,55	439,42
Π	Y=-4,94462+4,41457X	0,96451**	1003,95	5	100,00000	349,16	322,46	378,10
N	Y= 2,46401+5,44795X	0,95809**	1270,95	5	100,00000	5,02	4,70	5,36
m	Y= 2,37969+4,45304X	0,96753**	922,85	5	100,00000	7,52	6,95	8,13
a <sub>m</sub>	Y= 2,94553+1,57309X	0,98294**	581,53	6	100,00000	132,07	109,20	159,71

T A B L A XXXV (Continuación)

Ac Na  $\overline{pH}$  = 12,24  
 =====

	Ecuación de probit	r (Yobs - X)	$\chi^2$	n	P	DL <sub>90</sub>	Intervalo de confianza de la DL <sub>90</sub> al 95%	
							Limite inferior	Limite superior
%	Y = -8,50495 + 5,74361X	0,97952**	666,55	5	100,00000	375,37	352,17	400,09
Π	Y = -5,28031 + 4,63537X	0,98319**	517,65	5	100,00000	312,11	288,65	337,47
N	Y = 2,49387 + 5,73475X	0,97946**	679,05	5	100,00000	4,58	4,29	4,88
m	Y = 2,41070 + 4,67498X	0,98489**	469,04	5	100,00000	6,73	6,23	7,27

Ac Na  $\overline{pH}$  = 13,03  
 =====

%	Y = -1,46866 + 3,14404X	0,95720**	678,40	5	100,00000	291,81	267,75	318,04
Π	Y = -0,10466 + 2,73350X	0,96345**	585,80	5	100,00000	216,94	196,52	239,48
N	Y = 4,54988 + 3,14655X	0,95716**	675,95	5	100,00000	3,55	3,26	3,87
m	Y = 4,41827 + 2,79132X	0,96444**	574,00	5	100,00000	4,65	4,22	5,12

T A B L A XXXV (Continuación)

CO<sub>3</sub>Na<sub>2</sub>  $\bar{pH}$  = 11,49  
 =====

	Ecuación de probit	r (Y <sub>obs</sub> -X)	$\chi^2$	n	P	DL <sub>90</sub>	Intervalo de confianza de la DL <sub>90</sub> Limite inferior	Limite superior
%o	Y= 0,95564+1,69638X	0,97555**	58,72	4	99,45850	1379,40	885,01	2149,90
N	Y= 3,88459+1,68807X	0,97590**	58,85	4	99,46617	26,31	16,85	41,07
c	Y= 4,39099+1,70167X	0,97494**	58,87	4	99,46733	12,91	8,30	20,10
m	Y= 4,30342+1,53143X	0,97361**	64,25	4	99,70634	19,58	11,99	31,96

Urea  $\bar{pH}$  = 8,49  
 =====

%o	Y=-9,84958+6,02973X	0,98280**	1970,40	4	100,00000	473,47	448,27	500,09
Π	Y=-7,47732+6,02114X	0,98246**	1971,16	4	100,00000	192,81	182,53	203,66
c	Y= 0,88023+6,02110X	0,98246**	1971,16	4	100,00000	7,89	7,47	8,33
m	Y= 1,22418+4,46022X	0,99042**	640,76	4	100,00000	13,61	12,64	14,66

superior en general a los demás. Sin embargo, cuando es posible introducir en los análisis la actividad media molal, (para las soluciones de los productos sólo, es decir sin intervención de los ácidos y bases correspondientes), tales correlaciones son mejores en la mayoría de los casos, es decir, expresan mejor la relación existente entre los probits observados y las dosis, lo que es perfectamente lógico si tenemos en cuenta que los electrolitos en solución se comparten químicamente con arreglo a su actividad como ya se explicó en el capítulo de introducción. (Disoluciones no ideales).

A la vista de este hecho es nuestro propósito establecer una correlación entre la mortalidad y la actividad media molal de los electrolitos ensayados. Para ello se calcularon tales actividades en el rango de concentraciones molales experimentadas, y se representaron gráficamente para todas las sales (Fig. 25); como puede apreciarse el producto más activo es el cloruro cálcico y el menos el sulfato potásico, que no ha podido representarse porque sólo pudieron prepararse como máximo soluciones 0,78 m.

Se fijó una concentración 4 m. para todos los productos por ser ésta la que produjo una mortalidad del 90 % con  $\text{Cl}_2\text{Ca}$  y donde mejor se aprecian las diferencias de toxicidad; se calcularon las actividades en todos los casos, así como los probits correspondientes a partir de las ecuaciones de la TABLA XXXV, obteniéndose los valores que aparecen en la XXXVI.

A continuación, y tras haberse observado que la rela-

T A B L A    XXXVI

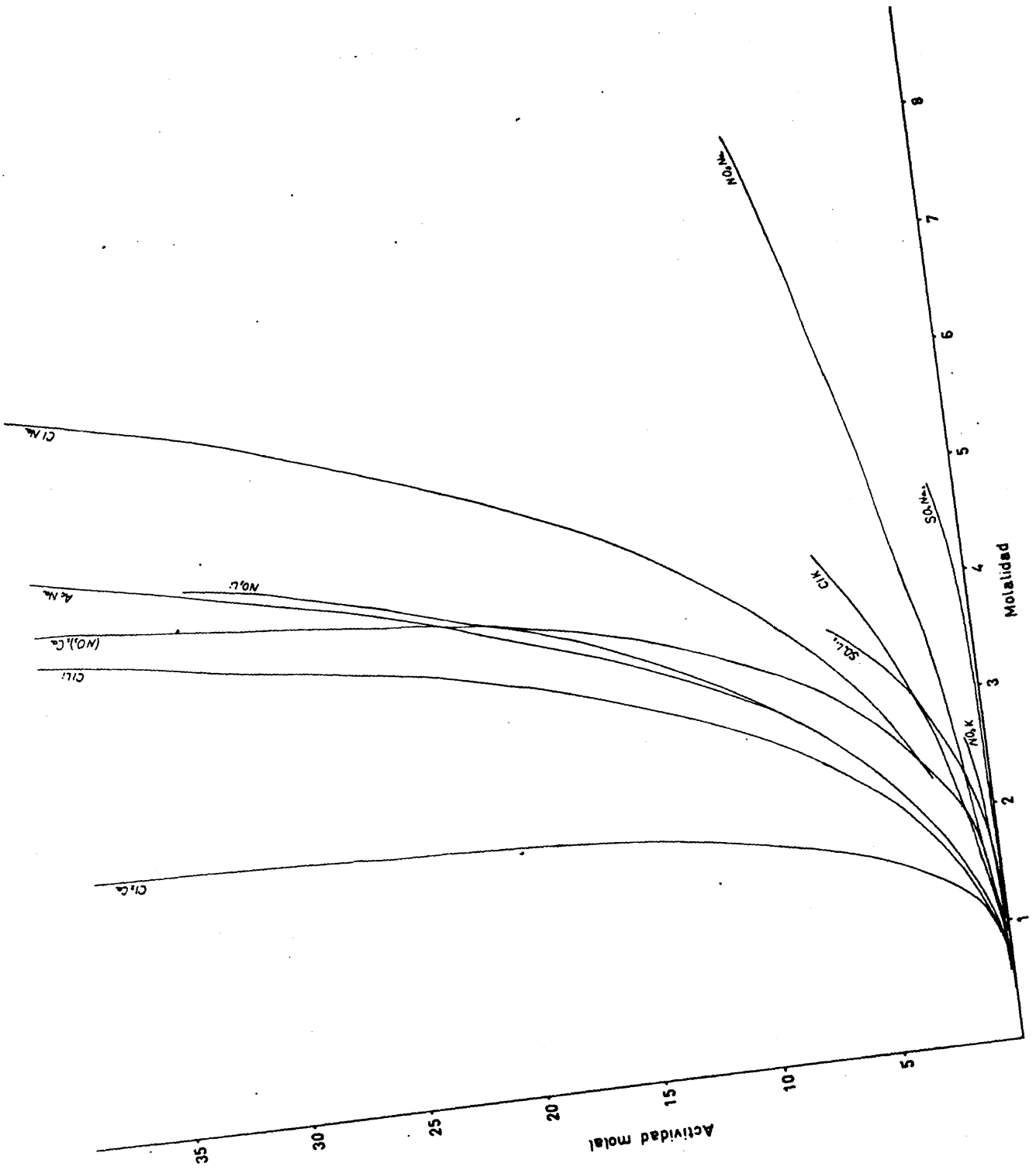
---

Probits correspondientes a las actividades medias molales ( $a_m$ ) de diferentes electrolitos para concentración 4 molal, deducidos de las ecuaciones que figuran en la TABLA XXXV en cada caso al  $\overline{pH}$  propio de la disolución de la sal.

Electrolito	$a_m$	probit
Cl Li	36,4816	6,1842
Cl Na	9,8096	5,0241
Cl K	5,3264	4,7748
Cl <sub>2</sub> Ca	6439,3728	6,2792
NO <sub>3</sub> Li	20,2496	6,1069
NO <sub>3</sub> Na	2,6640	4,9102
NO <sub>3</sub> K	0,7600	3,8484
(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> Ca	21,0688	5,6905
SO <sub>4</sub> Li <sub>2</sub>	10,9824	5,3953
SO <sub>4</sub> Na <sub>2</sub>	0,6400	3,9316
SO <sub>4</sub> K <sub>2</sub>	0,2560	4,1294
Ac Na	21,3440	5,0609

Fig. 25

Variación de la actividad media molar con la concentración molar de soluciones de diferentes productos químicos.



ción entre las actividades y los probits era del tipo potencial, se procesaron en el Centro de Cálculo ya mencionado para ajustarlos a funciones del grado necesario por el método de regresión polinómica, tomando como variable dependiente  $\log p$  y como independiente  $\log a_m$ , siendo  $p$  y  $a_m$  el probit y la actividad media molal, respectivamente, encontrándose:

$$\log p = 0,6497816 + 0,0547696 \log a_m$$

con un coeficiente de correlación de 0,8321, significativo al 99,99% para 10 grados de libertad. Este programa también proporciona las siguientes aproximaciones:

$$\log p = 0,6363 + 0,1017 \log a_m - 0,0151 (\log a_m)^2$$

$$\log p = 0,6175 + 0,0616 \log a_m + 0,0506 (\log a_m)^2 - 0,0143 (\log a_m)^3$$

$$\log p = 0,6112 + 0,0699 \log a_m + 0,0808 (\log a_m)^2 - 0,0478 (\log a_m)^3 + 0,0066 (\log a_m)^4$$

$$\log p = 0,6114 + 0,0906 \log a_m + 0,0677 (\log a_m)^2 - 0,0945 (\log a_m)^3 + 0,0497 (\log a_m)^4 - 0,0079 (\log a_m)^5$$

Tomando antilogaritmos en la última expresión queda:

$$p = 4,086 a_m^{0,0906 + 0,0677 \log a_m - 0,0945 (\log a_m)^2 + 0,0497 (\log a_m)^3 - 0,0079 (\log a_m)^4}$$

en que, al ser los términos exponenciales negativos, mayores en

valor absoluto que los positivos precedentes inmediatos, para un valor suficientemente elevado de  $a_m$ , la función tomará la forma

$$p = K \cdot a_m^{-b}, \text{ es decir } p = \frac{K}{a_m^b}, \text{ es decir,}$$

para ese valor de  $a_m$ , el probit tiende a cero, lo que no está de acuerdo con las deducciones anteriores que confirman la ley general: A mayor actividad química mayor toxicidad a concentraciones elevadas. Esta es la razón fundamental para no aceptar esta función, pero también hemos de considerar que la operatividad de la última expresión es pequeña y por tanto su utilización práctica sería complicada, por lo que se acepta la primera, habida cuenta además de que el valor del coeficiente de correlación lineal  $r$  es ya elevado.

Pasando a la forma antilogarítmica es :

$$p = 10^{0,6497816} \cdot a_m^{0,0547696}$$

A continuación se introdujeron ambos exponentes como parámetros iniciales de un método correctivo diferencial de estimación paramétrica, obteniéndose la función:

$$p = 10^{0,66095} \cdot a_m^{0,046347} \quad \text{o sea}$$

$$P = 4,5808 \cdot a_m^{0,0463} \quad \text{que es la mejor solu--}$$

ción en el sentido de mínimos cuadrados, es decir: la que hace mínimo el valor  $(P_{\text{obs}} - P_{\text{calc}})$  con un coeficiente de correla--

ción  $r = 0,808$ , significativo al 99 %. Su representación gráfica aparece en la Fig. 26.

De la TABLA XXXVI se deduce que el orden decreciente de actividad es :

$\text{Cl}_2\text{Ca}$ ,  $\text{ClLi}$ ,  $\text{AcNa}$ ,  $(\text{NO}_3)_2\text{Ca}$ ,  $\text{NO}_3\text{Li}$ ,  $\text{SO}_4\text{Li}_2$ ,  $\text{ClNa}$ ,  $\text{ClK}$ ,  $\text{NO}_3\text{Na}$ ,  $\text{SO}_4\text{Na}_2$ , y  $\text{SO}_4\text{K}_2$  que concuerda con el de toxicidad, obtenida a partir del cálculo de los probits correspondientes con la expresión anterior.

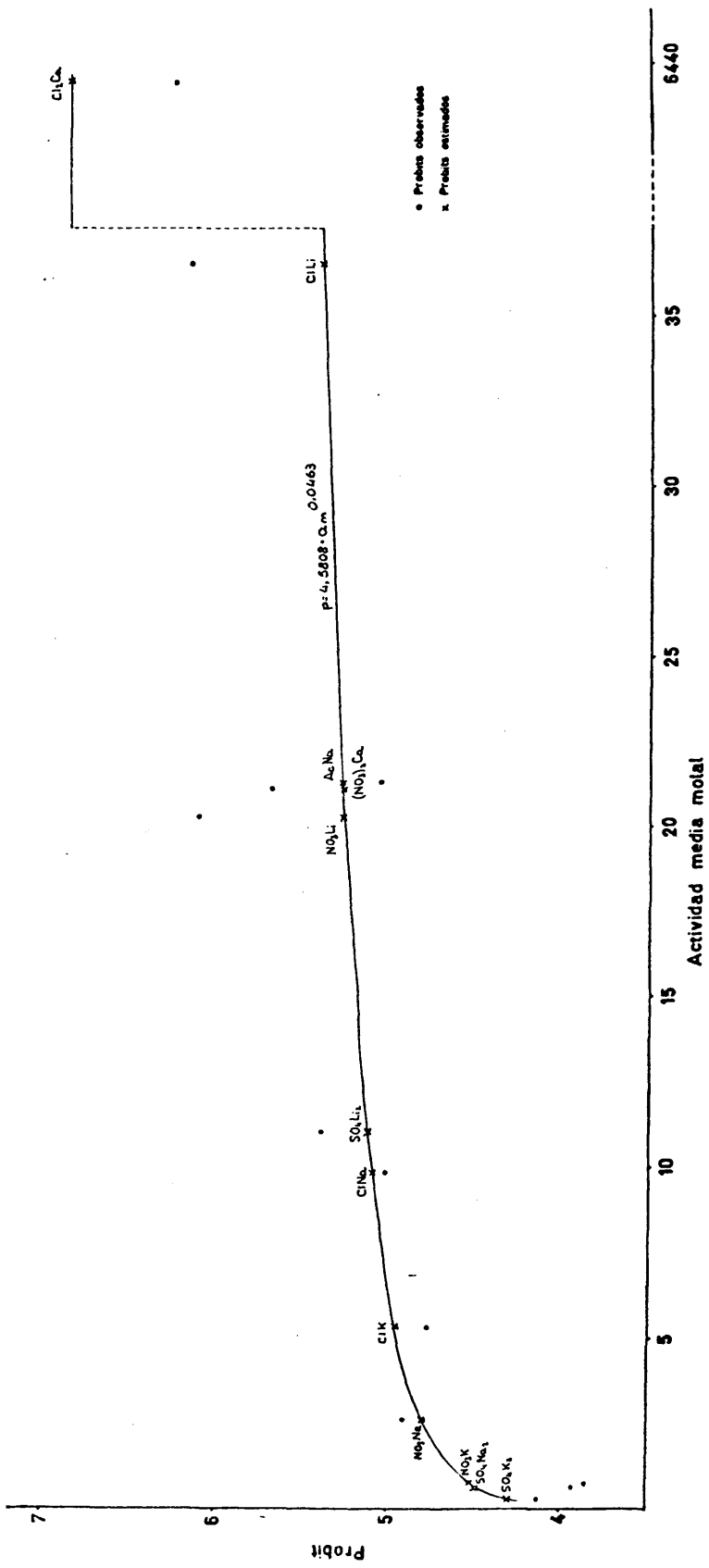
Si tenemos en cuenta el orden por cationes vemos que, dentro de los cloruros es:  $\text{Ca}^{++} > \text{Li}^+ > \text{Na}^+ > \text{K}^+$ , dentro de los nitratos  $\text{Ca}^{++} > \text{Li}^+ > \text{Na}^+ > \text{K}^+$  y para los sulfatos  $\text{Li}^+ > \text{Na}^+ > \text{K}^+$  es decir, que para los cationes monovalentes el orden de toxicidad está en razón inversa de sus radios iónicos, y en razón directa de sus potenciales iónicos, sin excepción.

Considerando ahora los aniones se deduce que para las sales de litio:  $\text{Cl}^- > \text{NO}_3^- > \text{SO}_4^{--}$ ; para las de sodio:  $\text{Ac}^- > \text{Cl}^- > \text{NO}_3^- > \text{SO}_4^{--}$ ; para las de potasio:  $\text{Cl}^- > \text{NO}_3^- > \text{SO}_4^{--}$  y para las de calcio:  $\text{Cl}^- > \text{NO}_3^-$ ; o sea, en razón inversa de sus radios iónicos calculados sobre la base de consideraciones termodinámicas y en razón directa de sus potenciales iónicos, para los iones monovalentes.

Cuando se tiene en cuenta el comportamiento de  $\text{NO}_3\text{K}$ ,  $\text{SO}_4\text{Na}_2$  y  $\text{SO}_4\text{K}_2$  respecto a una toxicidad frente a los huevos de Ceratitis, el efecto experimental observado aparece invertido respecto al teórico calculado, puesto que al haber considerado para todos los compuestos una concentración 4 m., superior en -

Fig. 26

Variación de la mortalidad (expresada en unidades "probit"), en huevos de Ce-  
ratitis capitata (Wied.), con la actividad media molar correspondiente a una concentra-  
ción 4 molar de diferentes electrolitos.



éstos casos al límite de solubilidad, se comete un error considerable, como ya hemos comentado, al extrapolar a partir de las ecuaciones de probits.

Antes se ha comentado en relación con la influencia del  $\overline{\text{pH}}$  sobre la mortalidad de los huevos de este insecto, que cuando las concentraciones de las soluciones utilizadas son elevadas, las diferencias en toxicidad de los productos químicos ensayados, son pequeñas en el rango de  $\overline{\text{pH}}$ s estudiados. Esto indica que el efecto letal debido a la actividad química de los electrolitos a esas concentraciones es superior al que se obtiene por el  $\overline{\text{pH}}$  en sí; es decir, que cuando el medio que se considera es una disolución concentrada de un electrolito solamente, la toxicidad ocasionada en los huevos de Ceratitis es debida a su actividad química, predominando éste hecho cuando se añade al citado medio un ácido ó una base para obtener el  $\overline{\text{pH}}$  deseado, -- quedando enmascarado el efecto que éste ocasiona aisladamente.

## C O N C L U S I O N E S

=====

1.- Soluciones de cualquier electrolito producen toxicidad superior que las de glucosa y urea, (no electrolitos), a concentraciones y  $\overline{\text{pHs}}$  equivalentes.

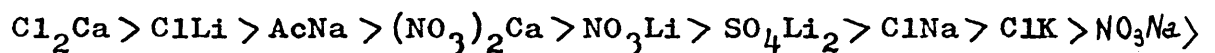
2.- Existe una alta correlación entre la mortalidad de los huevos de Ceratitidis capitata Wied., expresada en probits y la actividad media molal de soluciones concentradas de electrolitos. (Para soluciones 4 m.,  $r = 0,8325$  calculado sobre la base de los logaritmos decimales de ambas variables).

3.- Para soluciones 4 m., la función que mejor explica tal relación es:

$$p = 4,5808 \cdot a_m^{0,0463}$$

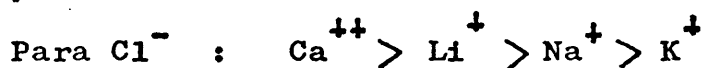
( $r = 0,808$ , significativo al 99 %)

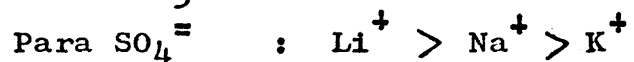
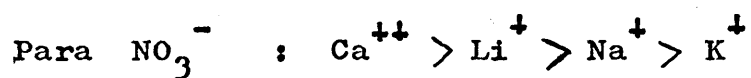
4.- El orden de toxicidad encontrado es:



$\text{NO}_3\text{K} > \text{SO}_4\text{Na}_2 > \text{SO}_4\text{K}_2$  que coincide con el de su actividad química media molal.

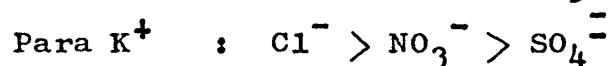
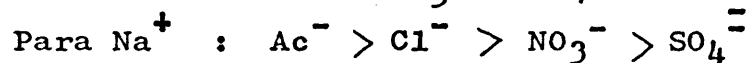
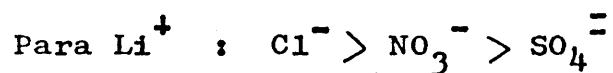
5.- Para un anión determinado, el orden de actividad química y toxicidad es:





que en el caso de cationes monovalentes está en razón inversa de sus radios iónicos y en razón directa de sus potenciales iónicos sin excepción.

6.- Para un catión determinado, el orden de actividad química y toxicidad es:



que está, sin excepción, en razón inversa de sus radios iónicos (calculados termodinámicamente), y en razón directa de sus potenciales iónicos para los monovalentes.

7.- La toxicidad, en general, es tanto más acusada cuanto más elevado es el  $\overline{\text{pH}}$  de las soluciones, excepto para  $\overline{\text{pH}}$ s muy ácidos (del orden de 1).

8.- La toxicidad de los electrolitos utilizados es debida fundamentalmente a su actividad química cuando las concen--traciones de las soluciones utilizadas son elevadas, predominando su efecto sobre el del  $\overline{\text{pH}}$  de las mismas.

## RESUMEN

=====

Este trabajo no quiere ser sino una contribución más al conocimiento básico del insecto Ceratitis capitata (Wied.)- por la importancia bioeconómica de la especie, habiéndose centrado los experimentos en la fase de huevo.

En una primera parte, dentro del capítulo de Introducción, se hace una breve descripción de la familia, género y especie a las que pertenece el insecto. A continuación se hace referencia a su bionomía, pasando después a describir cronológicamente los métodos de lucha.

El huevo del insecto es, como hemos dicho, la fase a la que se ha dirigido la parte experimental de este trabajo- por lo que se le describe extensamente.

Como los experimentos realizados se han efectuado con disoluciones acuosas, se ha considerado oportuno escribir un capítulo sobre algunas consideraciones físico-químicas teóricas que abarquen desde las propiedades del agua hasta el estudio de conceptos que, como presión osmótica, conductividad y transporte iónicos, ocupan un lugar preferente en las soluciones de electrolitos. De éstas, las no ideales son las que en nuestro caso interesan, por lo que es necesario hacer hincapié en conceptos tan importantes como coeficiente osmótico, factor de -- Van't Hoff y, sobre todo, actividad química, puesto que, como

luego veremos, es aquí donde se centra todo el peso de nuestras conclusiones. La actividad química no es otra cosa que la forma de explicar el distinto comportamiento de los electrolitos en soluciones concentradas, puesto que, entonces, los resultados discrepan enormemente de lo que en teoría debe esperarse según la concentración de las soluciones, ya que se originan interacciones iónicas, dando lugar a la formación de iones asociados en pares  $+ -$  si la concentración no es muy elevada; pero si ésta aumenta empiezan a formarse iones triples  $+ - +$  y  $- + -$ , etc.

Se expresa como el producto de la concentración por un factor  $\gamma_{\pm}$ , llamado factor de actividad, utilizándose en realidad la actividad media iónica. Su expresión, debida a Debye-Hückel es :

$$- \log \gamma_{\pm} = \frac{AZ_{+} \cdot Z_{-} \cdot \sqrt{u}}{1 + aB \sqrt{u}} - Cu \quad \text{donde A es del}$$

orden de 0,5;  $u$  es la fuerza iónica, definida por  $u = \frac{1}{2} \sum C_i Z_i^2$  siendo  $C_i$  la concentración iónica y  $Z_i$  la carga eléctrica de ión;  $a$  es la distancia media de aproximación de dos iones de signo opuesto;  $B$  está formada por dos constantes universales, la constante dieléctrica y la temperatura absoluta y  $Cu$  es la corrección debida a la atracción entre los iones y las moléculas dipolares del disolvente.

También se repasan en este capítulo algunos fenómenos de transporte y movilidad iónica, para lo que se detallan los valores de los radios de las especies iónicas utilizadas, así como los de su potencial iónico.

Debido a que los huevos de los insectos están dotados de cuanto mecanismos estructurales y fisiológicos son necesarios para afrontar los problemas que les afectan, por encontrarse - tanto en condiciones excesivamente secas como muy húmedas, hemos incluido un capítulo más dedicado a los fenómenos físico--químicos en ésta fase, como permeabilidad, fenómenos osmóticos, aspectos respiratorios, etc, puesto que no descartamos la posibilidad de que el efecto tóxico de las sales utilizadas en nuestros experimentos, se deba, a que se produzca un desequilibrio, respiratorio, iónico u osmótico en ésta fase de desarrollo.

En el capítulo de Material y métodos se detallan las condiciones en que se han realizado los experimentos, así como las técnicas utilizadas, resaltando especialmente aquéllos aspectos que pudieran influir en la objetividad de los resulta--dos.

En éste capítulo, se explica también que los resulta--dos obtenidos se sometieron a un análisis estadístico de pro--bits ya que las gráficas que muestran la relación entre mortalidades de huevos y dosis se corresponden con curvas de tipo -signoideo. Por este método, el tratamiento de los datos se a--proxima a una valoración cuantitativa con las proporciones de individuos, (huevos en nuestro caso), de cada lote que reaccio--nan de una forma determinada. (" Probit ", abreviatura de "pro--bability unit", se utiliza para evitar los valores negativos - de la variable, y es, la abcisa correspondiente a la probabili--dad  $p$ , en una distribución normal de media 5 y desviación tipi

ca 1).

Los resultados obtenidos al tratar los huevos de Ce-ratitis con los diferentes productos químicos son altamente re-veladores en el sentido de que se pone de manifiesto en primer lugar una escasísima acción tóxica de la glucosa, (no electro-lito), mientras que las sales utilizadas muestran un efecto le-tal considerable. Este primer punto se somete a una amplia dis-cusión en el sentido de considerar todas las unidades de con-centración de las soluciones ensayadas así como las zonas a -- que se hacen referencia los índices de mortalidad observados. Tales soluciones, en principio, contenían sólo los electroli-tos con objeto de estudiar su efecto aisladamente. Cuando los resultados obtenidos se sometieron al análisis de probits se -dedujo que es la actividad química media molal la que mejor ex-plica la relación existente entre mortalidad, (debida sólo al producto, pues se eliminó la natural), y dosis (logarítmica) -al ser, en general, más elevado el coeficiente de correlación lineal.

Comparando también la toxicidad de la urea (no ele-trolito) con la de las sales, a concentraciones y  $\overline{\text{pH}}$  equivalen-tes, se dedujo que el valor obtenido en cada caso era inferior.

Con objeto de obtener un orden de toxicidad y estable-cer cuantitativamente la ley que mejor exprese su relación con la actividad química de los electrolitos estudiados, se fijó una concentración 4 m. para todos y se calculó la actividad co-rrespondiente para las sales en que estuvieron determinados --

los coeficientes de actividad, utilizando las expresiones

$$a_m = \gamma_{\pm}^2 \cdot m^2 \quad \text{ó} \quad a_m = 4 \gamma_{\pm}^3 \cdot m^3$$

según se tratara de electrolitos del tipo 1:1 ó 1:2 . La concentración fijada fué 4 m. por ser ésta la que produjo una mortalidad del 90 % en  $\text{Cl}_2\text{Ca}$ , (la más activa de las sales), y donde mejor se aprecian las diferencias de toxicidad. La probits correspondientes se calcularon a partir de las ecuaciones que proporciona el análisis estadístico. Se obtuvo la expresión:

$$\log p = 0,6497816 + 0,0547696 \log a_m$$

con un coeficiente de correlación  $r = 0,8325$ , significativo al 99,99 % para 10 grados de libertad. Tomando antilogaritmos es:

$$p = 10^{0,6497816 + 0,0547696 \cdot a_m}$$

A continuación, utilizando un método correctivo diferencial de estimación paramétrica, se obtuvo la función:

$$p = 10^{0,66095 + 0,046347 \cdot a_m} \quad \text{es decir}$$

$$p = 4,5808 \cdot a_m^{0,0463}$$

que es la solución más adecuada de acuerdo con los resultados obtenidos, con  $r = 0,808$ , significativo al 99 % (Fig. 26).

A partir de esta ecuación se calcularon los probits correspondientes a las actividades dadas, encontrándose el siguiente orden decreciente

$\text{Cl}_2\text{Ca}$ ,  $\text{ClLi}$ ,  $\text{AcNa}$ ,  $(\text{NO}_3)_2\text{Ca}$ ,  $\text{NO}_3\text{Li}$ ,  $\text{SO}_4\text{Li}_2$ ,  $\text{ClNa}$ ,  $\text{ClK}$ ,  $\text{NO}_3\text{Na}$ ,  $\text{NO}_3\text{K}$ ,

$\text{SO}_4\text{Na}_2$ ,  $\text{SO}_4\text{K}_2$ , que concuerda con el de su actividad media molal.

Con objeto de establecer una escala de toxicidad se agruparon, para un anión determinado, todas las sales que lo contenían, encontrándose que, para los cationes monovalentes, tal orden está en razón inversa de sus radios iónicos y en razón directa de sus potenciales iónicos sin excepción. Cuando se hizo lo mismo respecto de cationes comunes resultó que la toxicidad está en razón inversa de los radios iónicos de los aniones considerados, (calculados sobre la base de consideraciones termodinámicas), y en razón directa de los potenciales iónicos para los aniones monovalentes.

En el caso de las sales poco solubles ( $\text{NO}_3\text{K}$ ,  $\text{SO}_4\text{Na}_2$  y  $\text{SO}_4\text{K}_2$ ), el efecto experimental observado aparece invertido respecto del teórico calculado, ya que al haber considerado para todos los compuestos una concentración 4 m., superior al límite de solubilidad en las tres sales mencionadas, se comete bastante error al extrapolar a partir de las ecuaciones de probits.

Después se realizaron los mismos experimentos con las soluciones de las mismas sales pero ajustándolas a  $\overline{\text{pHs}}$  1,4, 10, y 12 con objeto de estudiar el efecto del  $\overline{\text{pH}}$ , encontrándose que, en general, las soluciones que presentan  $\overline{\text{pH}}$  muy ácido ó muy alcalino son las más tóxicas, siéndolo más éstas últimas, lo que es perfectamente lógico si tenemos en cuenta que normalmente el huevo es puesto en el interior de las frutas cuando éstas presentan un grado de acidez incluso menor de 4.

Cuando las concentraciones de las soluciones ensayadas son elevadas la toxicidad presenta valores menos acusados, debido a que predomina el efecto de la actividad química de los productos sobre el del  $\overline{\text{pH}}$  de sus soluciones.

B I B L I O G R A F I A  
=====

ABBOT, W.S.

1925.- A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Ent. 18; 265-267.

AGRELL, I.

1964.- Physiological and biochemical changes during insect development. In: The Physiology of insecta; 1; 91-148. (Ed. M. Rockstein. New York, London).

ARROYO, M. y col.

1965.- Aplicación de isótopos radiactivos a la investigación de métodos sobre lucha biológica contra plagas. III. Obtención de "machos estériles" de Ceratitidis capitata Wied. mediante la irradiación de sus pupas con rayos gamma. Bol. Pat. Veg. Ent. Agr. 28; 257-280.

ARROYO, M. y col.

1967-68.- Ensayos sobre erradicación de Ceratitidis capitata Wied. por el método de los "machos estériles" en la isla de Tenerife. Bol. Pat. Veg. Ent. Agr. 30; 233-249.

BACKMAN, E. L.

1912.- Osmotic pressure, nymphs of Libella (Odonata). Zentralbl. Physiol. 25; 835-837.

BALACHOWSKY, A. et MESMIL, L.

1935.- Les insectes nuisibles aux plantes cultivées, 1; 242--  
243. Paris

BALDES, E. J.

1939.- Measurement of osmotic pressure. Biodynamica, 46; 1-8.

BATE, S.M.

1939.- Reaction to salt solutions, mosquitos. Amer. Jour. --  
Trop. Med. 19; 357-384.

BERGERARD, J.

1947.- Action of osmotic pressure and cations, heart, Gryllus  
(Orthoptera). Comp. Rend. Soc. Biol. 141; 1079-1083.

BODENSTEIN, D.

1953.- Embryonic development. In: Insect Physiology. 96-146  
(Ed. K. D. Roeder. New York.).

BODINE, J.H.

1934.- Oxygen tension and consumption egg. (Orthoptera). --  
Physiol. Zool. 7; 459-463.

BODINE, J.H. and BOELL, E.J.

1936.- Respiration, embryo and egg. Jour. Cellular and Comp.  
Physiol. 8; 357-366.

BORROR, D.J. and DELONG, D.M.

1955.- An introduction to the study of insects. 624-625. --  
(Rinehart and Company. New York).

BUCK, J.B.

1953 a .- Physical properties and chemical composition of in-  
sect blood. In: Insect Physiology. 147-190. (Ed. K.  
D. Roeder; New York ).

BUCK, J.B.

1953 b.- The Internal Environment in Regulation and Metamorphosis. In: Insect Physiology. 191-217. (Ed. K. D. Roeder; New York ).

1962.- Some physical aspects of insect respiration. Annual review of entomology; 7; 27-56.

BURKHOLDER, J.R.

1934.- Respiratory metabolism of egg Orthoptera. Physiol. Zool. 7; 247-270.

BUSVINE, J.R.

1957.- A critical review of the techniques for testing insecticides. Commonwealth Agricultural Bureaux. 167-184. - London.

CLAUS, A.

1937.- Ecology, aquatic bugs. Zool. Jahrb. Abt. Physiol. 58; 365-432.

CONWAY, B.E.

1952.- Osmotic coefficients at 25°C. In: Electrochemical Data. 68-70. London.

COUNCE, S.J.

1973.- The causal analysis of Insect Embryogenesis. In: Developmental Systems: Insects. 2; 1-156. (Ed. S.J. Counce and C.H. Waddington.).

CHAUVIN, G. et BARBIER, R.

1972.- Perméabilité et ultrastructures des oeufs deux lépidoptères tineidae: Monopis rusticella et Trichophaga tapet

zella. J. Ins. Physiology; 18; 1<sup>o</sup>, 8; 1447-1462.

DAVIDSON, G.

1974.- Genetic Control of Insect Pests. 1-4. Academic Press.  
London and New York.

DAVIES, L.

1950.- The hatching mechanism of Muscid eggs. (Diptera). J. -  
exp. Biol. 27; 437-445.

DELMAS, H.G.

1953.- Essai de lutte chimique contre Ceratitis capitata Wied.  
C. R. Ac. Agric. 39; 394-397.

DIAMOND, J.

1962.- The mechanism of water transport by the gall bladder.  
J. Physiol. 161; 503-527.

EDWARDS, G.A.

1953 a.- Respiratory mechanisms. In: Insect Physiology. 55-95.  
(Ed. K.D. Roeder. New York.).

1953 b.- Respiratory metabolism. In: Insect Physiology. 96-146.  
(Ed. K.D. Roeder. New York.).

FINK, D.E.

1927.- Applications of pH studies. Ann. Ent. Soc. Amer. 20; -  
503-512.

FISHER, R.A. and YATES, F.

1963.- Tablas estadísticas para investigadores científicos. -  
64-65. 3<sup>a</sup> Ed. Aguilar. Madrid.

FLORKIN, M. and Jenniaux, CH.

1964.- Hemolymph: Composition. In: The Physiology of Insecta.

3; 109-152. (Ed. Rockstein, M. Academic Press. New York and London).

FRANK, H.S. and WEN, W.

1957.- Structural aspects of ion-solvent interaction in aqueous solutions: A suggested picture of water structure. Discuss. Faraday Soc. 24; 133-140.

GARCIA, S.P.

1960.- Estado actual de los medios de lucha contra la mosca de los frutos Ceratitidis capitata, y la mosca del olivo, Dacus oleae. Bol. Pat. Veg. Ent. Agr. 22; (1959); 51-56.

GARCIA, S.P. y RIVERO, J.M. (del).

1962-63.- Ensayos de pulverización cebo contra la mosca de los frutos, Ceratitidis capitata y mosca común. Bol. Pat. Veg. Ent. Agr. 26; 291-297.

GIL, A. y MUÑIZ, M.

1975.- Aplicación del método de máxima verosimilitud al análisis cuantal. An. I.N.I.A. (Serie General); nº6. (En prensa).

GLASSTONE, S.

1966.- Tratado de Química Física. 1154 págs. Aguilar. Madrid.

GRUBERG, A. et al.

1955.- Fumigation trials with Ethylene dibromide for the control of eggs and larvae of Ceratitidis capitata (Wied.) in Citrus fruit. Bul. Ent. Res. 46; 803-811.

HARVEY, K. and PORTER, G.B.

1963.- Introduction to Physical Chemistry. 19-22. Addison - Wesley Publishing Company, Inc. London.

HINTON, H.E.

1959.- Plastron respiration in the eggs of Drosophila and --  
other flies. Nature, Lond. 184; 280-281.

HINTON, H.E.

1960.a .- Plastron respiration in the eggs of blowflies. J. -  
Ins. Physiol. 4; 176-183.

1960 b.- The structure and function of the respiratory horns  
of the eggs of some flies. Phil. Trans. 243; 45-73.

1961 .- Respiratory systems of insect egg-shells. J. Insect.  
Physiol. 7; 224-257.

1963 .- The respiratory system of the egg-shells the blowfly,  
Calliphora erythrocephala Meigen, as seen with the -  
electron microscope. J. Insect. Physiol. 9; 121-129.

1964 .- The respiratory efficiency of the spiracular gill of  
Simulium. J. Insect. Physiol. 10; 73-80.

1967 .- The respiratory system of the egg-shell of the common  
house-fly. J. Insect. Physiol. 13; 647-651.

1968 a.- Structure and protective devices of the egg of the -  
mosquito Culex pipiens. J. Insect. Physiol. 14; 145-  
161.

1968 b.- Spiracular gills. Advan. Insect. Physiol. 5; 65-162.

HUHEEY, J.E.

1972 .- Inorganic Chemistry: Principles of structure and reac-  
tivity. 76-77. Harper International Edition. New York.

JAHN, T. L.

1935 .- Nature and permeability of Grasshopper Egg Membranes.  
II. Chemical composition of Membranes. Proc. Soc. Exp.

Biol. and Med. 33; 159-163.

1936 .- Permeability of egg membranes: Melanoplus, Orth. J. -  
Cell. Comp. Physiol. 8; 289-300.

KANZMANN, W.

1959 .- Some factors in the interpretation of protein denaturation. Adv. Protein Chem. 14; 1-63.

KILBY, B.A.

1963 .- The Biochemistry of the Insect Fat Body. Adv. Insect. Physiol. 1; 112-174.

KROGH, A.

1946 .- Exchange of ions, living systems. Proc. Roy. Soc. B. -  
133; 140-200. London.

LAKSHMINARAYANATH, N.

1969 .- Transport Phenomena in membranes; 180-214. Academic -  
Press. New York and London.

LOEB, J.

1915 .- Salt requirements for development. Jour. Biol. Chem.  
23; 431-434.

LOEWENSTEIN, W.R. and KANNO, Y.

1964 .- Studies on a epithelial (gland) cell junction. I. Modification of surface membrane permeability. J. Cell. Biol. 22; 565-586.

MELLADO, L. et al.

1966 .- Ensayos sobre erradicación de Ceratitidis capitata Wied. por el método de los "machos estériles" en la isla de Tenerife. Bol. Pat. Veg. Ent. Agr. 29; 89-117.

MELLADO, L. et al.

- 1969 .- Ensayos sobre erradicación de Ceratitis capitata Wied. por el método de los "machos estériles" en la isla de Tenerife. Bol. Pat. Veg. Ent. Agr. 31; 21-28.

MELLADO, L.

- 1972 .- Control de Ceratitis capitata Wied. por el método de "machos estériles" en España. Proceedings of a panel presentado en Viena. I,N.I.A.

METCALF, C.L. and FLINT, W.P.

- 1965 .- Insectos destructivos e insectos útiles. (Sus costumbres y su control). Compañía Editorial Continental S.A. México.

MOELLER, T.

- 1961 .- Inorganic chemistry. 445-451. (Ed. John Wiley and sons. New York).

NAYAR, J.K. and SANERMAN, D.M. (Jr.)

- 1974 .- Osmoregulation in larvae of the Saltmarsh mosquito, Aedes taeniorhynchus. Ent. Exp. and Appl. 17; 367-380 ( N. Holl Uitg. Mig Amsterdam).

NEMENZ, H.

- 1960 .- On the osmotic regulation of the larvae of Ephydra cinerea. J. Insect. Physiol. 4; 38-39.

O'BRIEN, R.D. and WOLFE, L.S.

- 1964 .- Radiation, radioactivity and Insects. Chap. 1. Academic Press. New York and London.

OLIVEIRA-CASTRO, G.M. and LOWENSTEIN, W.R.

- 1971 .- Junctional membrane permeability. J.Memb.Biol. 5; 51-77

O'SHANAHAN BRAVO DE LAGUNA, J.

1958 .- La mosca de las frutas (Ceratitidis capitata Wied.). Granja Agrícola Experimental. Las Palmas. Revista de divulgación agropecuaria. Las Palmas de Gran Canarias.

PAULING, L.

1960 .- The nature of the chemical bond. Cornell University - Press. Ithaca, New York .

PLANES G<sup>a</sup>, S.

1960 .- Estado actual de los medios de lucha contra la mosca de los frutos, Ceratitidis capitata y mosca del olivo - Dacus oleae. Bol. Pat. Veg. Ent. Agr. (1959) 24; 55-56.

PLANES G<sup>a</sup>, S. y RIVERO, J. M. (del).

1962-63 .- Ensayos de pulverización cebo contra la mosca de los frutos Ceratitidis capitata y mosca común. Bol. Pat. Veg. Ent. Agr. 26; 291-297.

POLIMANTI, O.

1915 .- Osmotic pressure during development silk worm. Biochem. Zeitschr. 70; 74-92.

RAMSAY, J.A.

1949 .- Method, freezing-pint determination. Jour. Exptl. Biol. 26; 57-64.

ROBERTIS, (de) E.D. y col.

1965 .- Biología celular. 473-505.

ROBINSON, R.A. and STOKES, R.H.

1949 .- Tables of osmotic and activity coefficients of electrolytes in aqueous solution at 25°C. Trans Faraday Soc. 45, 612-624.

ROBINSON, R.A. and STOKES, R.H.

1959 .- Electrolyte solutions. 449-491. Butterworth, London.

ROSE, B. and LEWENSTEIN, W.R.

1971 .- Junctional membrane permeability. J. Memb. Biol. 5; -  
20-50.

ROUSCHAL, W.

1940 .- Osmotic concentration terrestrial invertebrates. --  
Zeitschr. Wiss. Zool. Abt. A. 196-218.

RUBINSTEIN, D.L. et al.

1936 .- Sodium and calcium requirements, Drosophila. Biochem.  
Zeitschr. 278; 418-427.

RUIZ CASTRO, A.

1945 .- Fauna entomológica de la vid en España: Estudio siste-  
mático-biológico de las especies de mayor importancia  
económica. III (Diptera). Trabajos del Instituto Espa-  
ñol de Entomología (C.S.I.C.).

SAGUY, E.

1951 .- In: Traité de Zoologie. Anatomie-systématique. Biologie  
683-684. Masson et C<sup>ie</sup> Editeurs. Paris.

SALKELD, E.H.

1973 .- The chorionic architecture and shell structure of Ama-  
thes C-Nigrum (Lepidoptera: Noctuidae). The Canadian -  
Entomologist. 105; Ottawa, Canada, January, 1973, nº1.

SHROEDER, W.J. et al.

1973 .- A disposable cage for the Mediterranean Fruit Fly. J.  
Econ. Entomol. 66; nº6; 1342-1343.

SHAW, J. and STOBART, R.H.

1963 .- Osmotic and ionic regulation in insects. Advances in insect physiology. 1; 315-399.

SLATYER, R.D.

1967 .- Plant-water relationships . Academic Press London and New York.

SNEDECOR, G.W.

1962 .- Statistical Methods. The Iowa State University Press.

STOBART, R.H. and SHAW, J.

1974 .- Salt and water balance: Excretion. In: The physiology of insecta. 3; 189-258 (Ed. Rockstein. M.). Academic - Press. New York and London.

STOKES, R.H.

1948 .- A thermodynamic study of bivalent metal halides in aqueous solution. Part. XVII- Revision of data for all 2: 1 and 1:2 electrolytes at 25°C, and discussion of results. Trans. Faraday Soc. 44; 295-307.

STORER, T. and USINGER, R.L.

1957 .- Zoologia General. Ed. Omega. Barcelona.

TANAKA, N.

1965 .- Artificial egg receptacles for three species of tephritid fruit flies. J. Econ. Entomol. 58; 177-178.

TELFER, W.H. and SMITH, D.S.

1970 .- Aspects of egg formation. Insect. Ultrastructure; 5; 117-134.

TUFT, P.H.

1950 a .- The structure of the insect egg-shell in relation to the respiration of the embryo. J. Exptl. Biol. 26, 327-334.

1950 b .- Egg-shell structures and respiration. Jour. Exptl. Biol. 26; 327-334.

TURICA, A. y VALSANGIACOMO, F.J.

1970 .- Jordanas sobre moscas de los frutos. Estación Experimental Agrícola de Tucumán.

USSING, H.H.

1949 a.- The distinction by means of tracers between active - transport and diffusion. The transfer of iodide across the isolated frog skin. Acta Physiol. Scand. 19; 43-56.

USSING, H.H.

1949 b.- Transport of ions across cellular membranes. Physiol. Rev. 29; 127-155.

VIALLI, M.

1925 .- Osmotic pressure invertebrates. Arch. Fisiol. 23; 577-596.

WIGGLESWORTH, V.B.

1938 .- Regulation of osmotic pressure and chloride, hemolymph, mosquito larvae. Jour. Exptl. Biol. 15; 235-247.

WIGGLESWORTH, V.B. and BEAMENT, J.W.L.

1950 .- The respiratory mechanisms of some insect eggs. Quart. J. Micr. Sci. 91; 429-452.

WIGGLESWORTH, V.B. and BEAMENT, J.W.L.

- 1959 .- The respiratory structures in the eggs of higher Dip-  
tera. J. Insect. Physiol. 4; 184-189.

WIGGLESWORTH, V.B.

- 1964 .- The life of insects. 76-85. (Ed: Richard Carrington.  
London).

- 1972 .- Development in the egg. In: The principles of insect  
physiology. 1-26. (Chapman and Hall, London.).

- 1973 .- The history of insect physiology. In: History of Ento-  
mology. 203-228. (Ann. Rev. Inc.).

YAMASAKI, T. and NARAHASHI, T.

- 1959 .- The effects of potassium and sodium ions on the rest-  
ing and action potentials of the cockroach Giant -  
axon. J. Insect. Physiol. 3; 146-147.

A G R A D E C I M I E N T O S  
=====

Deseo expresar mi agradecimiento:

Al Prof. Dr. Salvador V. Peris Torres, Ponente de la presente Tesis.

Al Dr. José M<sup>e</sup> Rey Arnáiz, Director de éste trabajo, cuya constante ayuda, tanto en la discusión de los resultados como en la redacción del texto, ha hecho posible su presentación.

Al Prof. Dr. Joaquín Templado Castaño por sus sugerencias.

A D. Angel Gil Criado y D. Rafael Badolato Molas, por su valiosa ayuda y orientaciones en los aspectos estadísticos.

A las Srtas. Isabel Marcos Gilaranz y Mercedes Hitado Morales por su inestimable colaboración.

A todas cuantas personas han contribuído directa ó indirectamente a la realización de esta Tesis.