

LA FILOGÉNIA

Y

EL PLEOMORFISMO DE LAS BACTERIAS

POR

VICENTE CURCI

Director del Laboratorio Químico y Bacteriológico
del Hospital de Caridad de Montevideo

CONFERENCIA

PRESENTADA AL CONGRESO LATINO - AMERICANO
en Buenos Aires el 10 de Abril de 1898



1898

IMPRENTA DE «EL SIGLO», 25 DE MAYO 58
MONTEVIDEO

Al muy distinguido abogado y amigo Doctor Don Luis Melian La-
inur.

LA FILOGENIA

Recuerdo de su siempre amigo.

Y

Vicente Curci

EL PLEOMORFISMO DE LAS BACTERIAS

POR

VICENTE CURCI

Director del Laboratorio Químico y Bacteriológico
del Hospital de Caridad de Montevideo

81.327



1898

IMPRENTA DE «EL SIGLO», 25 DE MAYO 58
MONTEVIDEO

Señores:

A fin de no abusar de vuestra benevolencia, procuraré ser breve, conceptuando que solamente una disertación sumaria, es la única y posible forma que en un congreso científico, puede llenar el fin deseado; trataré en ella desde luego, de reflejar de la manera mas fiel y clara los conceptos principales y perfectamente demostrables, dejando en suspenso para mas tarde en la memoria definitiva, y una vez en posesión de las nuevas luces que nos aporten las experiencias emprendidas, otras cuestiones no menos importantes, para tratarlas en ella con la extensión y profundidad que merecen; algunas de ellas no obstante, las trataremos de paso, de una manera superficial ó bosquejada, suprimiendo aquellas consideraciones, que supongo fluirán de vuestra preparación á la cual me amparo, y es la que me alienta á presentaros este estudio en forma así concisa.

Pero, quiero hacer constar ante todo, que no desconozco, que en el curso de mi trabajo me aparto completamente de ciertos principios aceptados aún hoy por una inmensa mayoría como verdades científicas indiscutibles; es mas aún: gran parte de mi estudio se halla consagrado á combatirlos; todos los hechos que establezco y comento; las consideraciones que hago y las experiencias realizadas que menciono en este lugar, me aportan argumentos suficientes para modificar esos principios y dejar sentados otros, opuestos si se quiere, los que dentro de términos absolutamente razonables, son á mi juicio los verdaderos, conceptuando desde luego que solo pueden aceptarse como tales aquellos que se basan en la experiencia y en el raciocinio que la guía é interprete.

Por este motivo, se comprende perfectamente, que dada la complejidad y la naturaleza de esta cuestión, me vea obligado, á pesar del deseo expuesto de ser breve, á entrar en algunas consideraciones generales é históricas que le son por completo atingentes y que revisten aquí un carácter absolutamente imprescindible.

Las consideraciones históricas á que hago referencia, nos son indispensables para el conocimiento de los hechos, que han sido el punto de partida y servido de base á la taxonomía actual, y de las fases sucesivas que ha seguido ésta, en el estudio de los microorganismos.

En efecto, no escapará á vosotros y es evidente que la incesante y febril acumulacion de datos, que se han ido sucediendo en un tiempo relativamente breve y que arrancan puede decirse de las memorables experiencias de Pasteur sobre la generacion espontánea, comprende desde entonces acá distintas épocas de concepto, ó criterio de valorizacion.

Y solo así se comprenden las múltiples divergencias en las opiniones vertidas hasta el presente, no solo con respecto á la agrupacion general, sinó que tambien en la clasificacion especial de las bacterias, para las que se han propuesto infinitas clasificaciones, ninguna de las cuales se halla exenta de graves críticas, pues casi todas ellas se hallan basadas desgraciadamente en la morfología y no satisfacen, por tanto, con arreglo á los conocimientos actuales al rigor científico deseable.

Otro tanto puede decirse con respecto á la clasificacion especial de los hongos mas elevados, que como veremos mas adelante, el número de especies de éstos disminuye puede decirse diariamente, á medida que se adquieren sobre ellos nuevos conocimientos.

Es evidente, que para esto es necesario establecer una base absolutamente racional, y es esta la tendencia científica actual en la taxonomía de imitar á la naturaleza, buscando sobre todo la derivacion filogenética, por ser la única senda que puede conducirnos á una clasificacion racional de los seres de la naturaleza, puesto que no es solo la sinonimia lo que debe buscarse, sino que existen otras razones de orden filosófico como ser las relaciones de parentesco ó de transicion gradual que insensiblemente nos conducen al origen común de los seres.

De aquí que estas relaciones hagan completamente imposible el establecimiento de límites ó divisiones absolutas en las clasificaciones; sin embargo, agrupándoles con arreglo á ciertas cualidades salientes, se pueden establecer límites relativos, cuyos extremos se ligan con los afines anterior y posterior por transiciones, que

si bien impiden su completa demarcacion, facilitan por lo menos su estudio y conocimiento.

Así, pues, si se tienen en cuenta las oscuridades que aun rodean el estudio de los microorganismos, no es extraño que no se haya llegado á establecer su colocacion en el reino vegetal y su sistemada clasificacion.

En efecto, su infinita, pequeñez, su extremo polimorfismo hijo de las condiciones de existencia, y hasta cierta variabilidad biológica originada por la misma causa, han dificultado grandemente su clasificacion, cosa que no obstante no es en absoluto imposible, dada la existencia de un fondo de especificidad.

Pues si bien en general ó en principio, los caracteres no son en absoluto permanentes, y de aquí la formacion de variedades y razas, existen algunos que caracterizando una colectividad, por su transmisibilidad por herencia, y por cierto grado de fijeza de que gozan, son los que sirven de base al establecimiento de las especies, ó sea mas bien, los que constituyen el fondo de especificidad.

Para ello, pues, es necesario conocer los principales hechos que constituyen su historia, analizándolos y valorizándolos en lo posible, con arreglo á los actuales conocimientos; estos nos permitirán establecer los *puntos de vista esenciales*, científicamente comprendidos, y aunque por el momento sea prematuro tentar su verdadera clasificacion, cosa que tampoco pretendo, podrán por lo menos coadyuvar grandemente á la síntesis que para ello se haga.

Por otra parte, este resumen histórico, con su correspondiente estudio crítico, nos es conveniente para evitar erróneas interpretaciones y colocar las cosas en su lugar.

Se atribuyen á Athanasius Kirchner en el año de 1671 las primeras observaciones, referentes á los micro-organismos, quien afirmó, que existian en la leche queso, vinagre y carne podrida, numerosos organismos extremadamente pequeños que él consideró como gusanos.

Leuwenhœck describe luego en 1722 como pequeños animalículos, un cierto número de bacterias que ha hallado en la cavidad bucal.

El descubrimiento casi simultáneo de las levaduras por Cagnard Latour en 1828 y Schwann 1837, el de la bacteridia carbonosa por Davaine y Rayer 1850 y Pollender 1855, recibian su con-

sagración por los de la fermentación por Pasteur, é incitaron á éste y á Davaine á establecer analogía en la naturaleza de estos fermentos con el agente del carbunclo, por este último descubierto, quienes á su vez con Robin establecieron luego su naturaleza vegetal.

Los posteriores é importantísimos estudios de Pasteur sobre los vinos, la cerveza y los gusanos de seda, la inauguración de los cultivos de los microorganismos *in vitro*, luego perfeccionados y extendidos por R. Koch constituyeron la vía á emprender en la nueva ciencia que sucesos tan fecundos nos reservaba.

Delineada pues la senda á seguir, numerosa falange de hombres eminentes delataron cuotidianamente, desde entonces hasta nuestros días, la intervención de estos seres microscópicos, en multitud de hechos, hasta esa fecha de muchos de ellos ignorados y atribuidos á causas de otra naturaleza.

Fué de aquí que surgieron los trabajos sobre la septicémia y la piemia de Coze y Feltz, d'Ogston, Billroth, Cohnheim, Recklinghausen, Orth, Birch, Hirschfeld y Klebs, el descubrimiento de los esporos del bacilos antracis, el descubrimiento del vibrion colérico, el del bacilo de la tuberculósis y la reproducción experimental de numerosas enfermedades por Koch, los trabajos de Chaveau, Arloing, Cornevin y Thomas, los de Feltheisen, Cornil Babés, Perroncito, etc., y tantos otros no menos importantes y que vosotros conoceis perfectamente.

La vertiginosa rapidéz con que se acumulaban todos estos conocimientos que surgian de todas partes del universo, constituyendo un inmenso protocolo, acrecian la importancia asignada á los microorganismos, como factores esenciales en la etiología de las enfermedades infecciosas, abriendo nuevos horizontes á la ciencia, prometiéndole proficuos beneficios á la humanidad.

La industria recibia á su vez un poderoso impulso, mientras se incorporaban á la historia natural los conocimientos relativos á una inmensa legión de obreros invisibles.

No es extraño pues que dada la importancia que esta ciencia adquiria, otra falange de sábios no menos ilustres tentaran su clasificación.

Se debe á Muller en el año de 1773 la primera tentativa de clasificación, el cual los dividió en dos grupos *vibrio* y *monas*, pero que como Leuwenhoeck los consideró infusorios.

Perthy primero que los dividió en *Spirillum* y *Bacterium* estableció su relación con las algas, y mas tarde Robin en 1853 y Davaine clasificaron las bacterias, al lado de las levaduras y las algas, sucediéndose luego las clasificaciones de Cohn 1.^a y 2.^a, Van Tieghem, Zopf, Rabenhorst, Hueppe, Toni y Trevisani y Wunschen.

Un fondo común existe en todas ellas, y es su pertenencia al reino vegetal, pero como ya lo hemos dicho anteriormente, acerca de su clasificación sistemada existen numerosas y divergentes opiniones, no habiéndose podido establecer hasta la hora actual de una manera definitiva, el lugar que les corresponde en ese reino, debiendo exceptuar á Claus que los incluye entre los animales protozoarios es decir, como un apéndice final de los protozoos.

Hemos dicho igualmente que su division en géneros y especies en la forma que lo han hecho, no está exenta de graves imputaciones, puesto que se basan en los caracteres morfológicos y en algunos biológicos en extremo deficientes.

En efecto: es fundamental en toda clasificación científica, la invariabilidad relativa dentro de ciertos límites del carácter en que se base.

Ahora bien: he manifestado que en general ó en principio, los caracteres no son en absoluto permanentes, sino mas bien circunstanciales, y especialmente en las bacterias ú organismos monocelulares, como lo veremos más adelante, tanto la forma como ciertas de sus funciones biológicas son hijas de las condiciones de existencia, modificaciones que pueden hacerse durables y trasmisibles.

Si en la clasificación de los seres superiores ó multicelulares, y con arreglo á los principios establecidos, la division de estos seres por su morfología etc. es aceptable dentro de límites relativos, es absolutamente difícil con respecto á los monocelulares.

Efectivamente, el medio en que se desenvuelven los seres superiores, es en general uniforme y estable, la sucesion de los individuos es en extremo lenta y por lo tanto, las modificaciones impresas en su organizacion, son igualmente

lentas, cosa que no ocurre con los monocelulares, amén de otras consideraciones que á ese respecto expondré.

Y es así que á medida que avanzaban las observaciones y conocimientos sobre la morfología de las bacterias y su variabilidad, que conocemos bajo el nombre de polimorfismo, pudo apreciarse la deficiencia de las clasificaciones existentes, originándose desde luego interesantes debates acerca de esta cuestion.

Por una parte Naegeli, admitiendo en las bacterias un polimorfismo casi ilimitado, segun el cual los representantes, serian susceptibles de modificarse sucesivamente tanto en su forma como en su funcion.

Las observaciones á este respecto, se sucedieron con frecuencia, y bien pronto distinguidos naturalistas se agrupaban al rededor de la doctrina de Naegeli.

Cienkowski estudia el polimorfismo de ciertas algas (*Stigleconium* y otras quetoforeas) y luego con Neelsen el de *bacillus cyanogenum*.

Zopf, Lankester y de Bary el polimorfismo del *Beggiatoa roseo persicina*, *alba*, *cladothrix*, *dicotoma* y *bac. megaterium*, y al mismo tiempo significaba Zopf que el *Cladothrix* y los *Beggiatoa* pueden revestir todas las formas contenidas en la clasificacion de Cohn.

Cohn por su parte y otros bacteriólogos distinguidos, tratan de defender su clasificacion, estableciendo el monomorfismo (si bien reconociendo la existencia de ciertas variaciones en la forma ocasionadas por la nutricion), solo aceptaban ellos un ciclo morfológico en extremo restringido, cuyos representantes se hallarian encuadrados en una forma constante, absolutamente limitada é inmutable (*Micrococos Bact.* y *Bac.*).

Bien pronto aparecieron numerosas observaciones, el polimorfismo observado por Van, Tieghem en el bacilos *amylobacter*, segun el cual puede presentarse bajo la forma de filamentos inmóviles, bastones rectos ó helicoides, móviles y células ovoideas ó esféricas (?)

Las experiencias de Warming sobre el *bacterium sulfuratum* y las de Metschnikoff sobre el *spirobabcillus Cienkowski*, que puede presentar la forma de bact. ovaladas, bacilos rectos, bacilos curvos, filamentos delgados y esporos.

Las de Wasserzug y de Babés con el *micrococcus prodigiosus* que se transforma en bacillus y en filamentos.

Las experiencias de Charrin Guignard y Gesard sobre el *bacillus pyocyanus*, el cual es susceptible de cambiar de forma y de pigmentacion, mediante la influencia de ciertas sustancias.

Los recientes trabajos de Bernheim y Flugge sobre el bacilo de la difteria, del cual han hallado formas ramificadas referibles á mucedíneas; y los de Coppen Jones, sobre el bacilo de la tuberculosis, quien nos dice que de sus investigaciones, resulta que el parásito de la tuberculosis pertenece á los hongos filamentosos, y no á la série de los esquizomicetes (hongos disiparos); pero en cuanto á su pertenencia sea á los micromicetes ó á los ficomicetes, este autor no se pronuncia, considerándolo por ahora cuestionable; á este respecto igualmente existen las observaciones de Petrone y Metschnikoff; el primero de estos autores establece que el microorganismo de la tuberculosis por su morfología, revela un grado elevado en la escala de los esquizomicetes, y concluye, en que posiblemente es intermediario entre los micromicetes y los esquizomicetes, en cuanto á Metschnikoff, por iguales causas le ha denominado *Sclerotrix Kochii*.

Los resultados obtenidos por Kruse y Pansini, quienes transformaron el pneumococcus de su forma en *diplococcus lanceolatus*, en forma de Streptococcus, caracter que luego conservó indefinidamente, é imposibilitaba distinguirlo del Streptococcus pyógenes.

Hoy felizmente, despues de haber aumentado las observaciones á este respecto, de una manera considerable, el pleomorfismo de las bacterias es un hecho, completamente aceptado.

Kruse, en su ensayo de derivacion filogenética de las formas nos dice que los espirilos con su estructura mas complicada derivan de los bacilos mas simples.

«En cuanto á la derivacion de los bacilos de los cocos (streptococos) no es muy dudosa; sin embargo el caso inverso sería tambien aceptable.

«Es claro, que el desarrollo del árbol de costado, no ha podido moverse en línea recta, sinó que en vías frecuentemente ramificadas, y muchas veces retrógradas.

«Aunque de Bary, Bütschli y Hüepppe se inclinan á la idea de que las formas primitivas de las bacterias eran flagelatiformes, en nuestro concepto la derivacion inversa tiene mas verosimilitud.»

La confirmacion experimental de estos conceptos, la veremos mas adelante en el estudio especial de la célula.

Los fenómenos de polimorfismo ó heteroécia, son tambien comunes á los hongos, y son los que en los individuos sexuados acompañan á las generaciones alternantes, y que son producidos, cuando en un cambio de *habitat* de éstos, en su adaptacion, les ocasiona metamórfofis regresivas. (Ustilagineas, Uredineas y Peronosporas.)

Supongo perfectamente conocido por vosotros el pleomorfismo del *Puccinia*, cuyos esporos producen en las gramineas el tipo *Uredo*, que luego de un periodo mas ó menos largo, principalmente después del verano, origina elementos bicelulares, ó *Puccinia*, y por último en determinadas circunstancias el *Ecidium*.

El *Peziza Sclerotium*, cuya forma conidiana constituye el *Botrytis Cinerea*, como igualmente para de Bary el *Arpergillus Glaucus* y el *Erotium herbarum*, no serían mas que estados distintos del desenvolvimiento de un mismo hongo, no obstante ser tan diferentes por sus órganos reproductores.

El *Claviceps purpurea* y sus formas llamadas anormales, *Sphacelia segetum* y *Sclerotium Clavus*.

El *Podisoma Sabina* de los enebros, que luego produce el *Reestelia Cancellata*.

La identidad del *Aspergillus Maximus* con el *Syzygites megalocarpus*, establecida por Tulasne y luego confirmada por Schacht y de Bary.

El *Uromyces Pisi*, el *Puccinia Straminis*, el *Coronata*, el *Phytophthora infestans*, etc.

Tenemos además los fenómenos de polimorfismo realizados con el *Cladosporium herbarum* por Laurent y Massart y que según el primero, el *Penicillium Cladosporoides* no es mas que una forma nutrida del *Cladosporium*, y que ambos la obtienen cultivándole en medios gelatinados, habiendo podido además Laurent, obtener experimentalmente con el *Cladosporium* los siguientes estados que representan á los tipos que á continuacion expongo:

- 1.° *Cladosporium herbarum* (tipo natural).
- 2.° *Penicillium cladosporóides*.
- 3.° *Dematium Pullulans* (1) sin células de forma de levadura.
- 4.° Id id con id id id id id.
- 5.° Forma de levadura blanca ó torulácea de Pasteur.
- 6.° Id id id rosada.
- 7.° Fumago, ó estado de enquistamiento común á las 5 primeras formas.

Yo he publicado tambien algunas cuestiones referentes al pleomorfismo, y veremos en el curso de este estudio algunos hechos relativos á la variabilidad morfológica y funcional.

No es extraño, pues, que estos fenómenos de polimorfismo de que hemos hablado, hayan ocasionado en los estudios criptogámicos muchos y frecuentes errores científicos, tanto en la sistematización general, como la especificacion, y en particular de las bacterias y de los hongos.

Y, ya no solo son las confusiones ocasionadas por la colocacion de un mismo microorganismo en lugares diferentes, en distintas clasificaciones, sino que también, luego se ha podido establecer la identidad en microorganismos considerados como distintos, siendo simplemente modos diferentes de su desenvolvimiento.

Por eso decíamos, que cuanto mas avancen los conocimientos sobre los hongos, el número de las especies existentes disminuirá considerablemente, y conceptúo que no es aventurado el decir, que en el hoy infinito mundo de las bacterias, ocurrirá otro tanto, pues aún no ha comenzado de una manera seria la depuracion.

De aquí que sea importante ante todo, establecer el valor de los *términos esenciales*, para la especificación, y que deban servir de base á la clasificación; esta en los hongos, ya es mas fácil dada su reproducción sexual ó asexual, pues se pueden subseguir en la forma gradual filogenética á imitación á la de las algas de la asexualidad á la sexualidad etc.

En cambio en las bacterias, por el momento es mas difícil por su asexualidad; no obstante los ca-

(1) E. Loew había ya hecho constar una semejanza absoluta entre el *Dematium Pullulans* y los filamentos micelianos del *Cladosporium*, sin admitir sin embargo su identidad, pero Saccardo y Constantiu le consideraban idénticos.

racteres morfológicos tendrán siempre valor aunque sea relativo, los que reunidos á los biológicos, nos puedan permitir gradualmente establecer la filogénesis.

Otra de las cuestiones que se han promovido por repetidas veces, contribuyendo á ello, como es de suponerse los hechos expuestos referentes al polimorfismo, es de si las especies son *mutables*, si proceden de materias organizadas mas ó menos simples, ó si ellas constituyen una simplificación de hongos más elevados.

Desde luego, de la doctrina de la generación espontánea, despues de las clásicas experiencias de Pasteur, no hay ni que hablar, del mismo modo que dejaremos de lado las doctrinas de Robin sobre la génesis por medio de blastemas y la de los microzimas de Bechamp.

En el sentido de la derivación ó de la autonomía absoluta é independencia de las especies con arreglo á las interrogaciones formuladas, casi todas las tentativas convirgieron hacia los *saccaromyces*, sobre cuyo origen se ha formado un voluminoso infolio de documentos.

Estos fueron, durante largo tiempo tenidos como algas, cuando Pouchet y Hoffman en 1859 y 1864, les consideraron, conidias de mucorineas y particularmente micelios del *Penicillium Glaucum*, *Mucor Racemosus* y de muchos otros hongos análogos, Bail, Berkeley y Hallier, apoyaron luego esas opiniones.

En efecto, para Berkeley el *Sacc. Cerevizae*, no sería más que una modificación del *Penicillium Glaucum*, fundándose para ello, en que se vé nacer á este hongo de los glóbulos del *Saccaromyces* expuestos al aire, en cambio que para Hallier el *Sacc. Cerevizae*, sería el estado conidial de un *leptotrix* que se desarrolla al estado perfecto en la cerveza despues de la fermentación.

Estas aserciones fueron bien pronto refutadas por de Bary y Rees, el último de los cuales á raíz del descubrimiento de los esporos de los *saccaromyces* por de Seynes, tentó su clasificación.

Mas tarde en 1871, Bechamp afirma que las bacterias acetificantes son susceptibles de transformarse en levaduras.

Simultáneamente Trecul y Fremy emiten la opinion de que proceden de las sustancias albuminóideas. Según el primero, estas podrian orga-

nizarse y transformarse en levaduras alcohólicas bacterias y *micoderma*.

Para el segundo serian las materias albuminoideas de los frutos, las que organizándose producirian las levaduras.

En 1872 Trécul anuncia la confirmacion de la observacion de Berkeley, y en el año de 1874 Duval, dice que cultivando convenientemente la levadura alcohólica, puede transformarse en fermento láctico.

Un año despues Robin dice que el *torula cereviseae*, el *Micoderma Cereviseae* y el *Penicillum* pueden transformarse reciprocamente unos en otros.

En el año de 1876 aparecen los estudios sobre la cerveza de Pasteur, donde este ilustre maestro, refleja su vacilacion, siempre que se trata en su obra de pronunciarse sobre este punto; pues si bien ataca á Bail, Berkeley, Hallier y á Hoffman, como lo habia hecho ya ardorosamente en 1861, admite la posibilidad de la procedencia de las levaduras alcohólicas, de las células del *Dematium Pullulans*, en condiciones determinadas.

Admitia igualmente Pasteur la posibilidad de la transformacion del *micoderma vini* en levadura alcohólica, pero luego de una série de experiencias efectuadas en el laboratorio de M. Duclaux en Clermont, modificó su opinion con respecto á la última de las transformaciones.

En cuanto á la asercion de la procedencia de las levaduras del *Dematium*, fué más tarde en 1879 refutada por Chamberland, al mismo tiempo que el mismo Pasteur se rectifica de las hipótesis emitidas en sus estudios sobre la cerveza; pues refiere que en algunas experiencias efectuadas en el año anterior, habia obtenido idénticos resultados á los de su discipulo Chamberland.

En 1886 Ludwig manifiesta que ha hallado en el flux mucoso de un fresno un *Oidium*, un *Saccaromyces* y una nueva especie de *Endomyces*, y pretende que estos micro-organismos se reflejen entre sí.

Posteriormente Hansen en 1889 refuta el concepto de Ludwig y se funda para ello, en que jamás observó relacion genética alguna entre estos micro-organismos que él cultivó al estado de pureza en medios diferentes.

Pocos años despues el doctor Takamine anuncia la obtencion de una levadura alcohólica del *As-*

pergillus Orizae, hongo empleado en la fabricación del Saké, opinion de que participaba Korschelt, mientras que Cohn y Büsgen refutan esta aserción.

En el año de 1895 hace una breve publicación J. Julher y establece que ha transformado un *Aspergillus* en un *Saccaromyces*, al mismo tiempo que Jörgensen confirma la afirmación de su discípulo.

Hansen se resiste á considerar exáctas las aserciones de Julher y Jörgensen, é inmediatamente Wehmer establece que en una série de experiencias por él efectuadas con el *Aspergillus Oriza*, no ha logrado constatar la formación de levaduras.

Poco tiempo despues aparece una nueva comunicación de Jörgensen en la que establece que el *Dematium* es capáz de originar en su interior y en ciertas condiciones, esporos que transportados á líquidos azucarados, se multiplican por yemación, transformándose en verdaderos *Saccaromyces*, estableciendo al mismo tiempo que ciertos *Aspergillus* y *Sterigmatocystis* se comportan de igual modo el *Aspergillus Oriza*, con el arroz sacarificado.

En la misma época Jülher revela que sus trabajos los ha efectuado con el *Aspergillus Oriza* y pretende confirmar las opiniones de Takamine; quien al efecto le procuró los materiales de sus expuestas experiencias.

De nuevo Wehmer refuta las aserciones de Jülher mientras que Jörgensen insiste en una nueva comunicación en sus afirmaciones sobre el *Aspergillus Oriza* y el *Dematium*.

Kosai y Jabe y Klocker y Schionning contradicen poco después las experiencias de Takamine, Jülher y Jörgensen.

Mientras por otro lado, Sorel anuncia la obtención de levaduras con los micelios del *Aspergillus Oriza* en mosto de cerveza en presencia de ácido fluorhídrico, y dice que estas levaduras pueden producir de nuevo el *Aspergillus Oriza* si se siembran en arroz henchido por el vapor de agua.

Luego se han sucedido con extremada frecuencia comunicaciones de este género. Jörgensen, Holm, Rafm, Brusch y Bendixen, al mismo tiempo que Jülher en una carta dirigida á Klocker Schionning, confiesa que ha padecido un error, en sus aserciones.

Ultimamente Seiter en 1896, A. y S. Wortman y Will, refutan de una manera absoluta las afirmaciones de Takamine, Jörgensen y Jülher.

Además á este respecto Alb. Klocker y Schionning han publicado recientemente una extensa y laboriosa memoria en la cual establecen que han repetido multitud de veces y de una manera rigurosa y sistemada, todas las experiencias de Takamine, Jülher y Jörgensen, habiendo obtenido siempre resultado completamente negativos; y terminan su trabajo con la siguiente conclusion:

«Hasta el presente, no existe un sólo hecho que demuestre que los *Saccaromyces*, sean fases de involucion de otros hongos; todas las aserciones avanzadas hasta ahora son inexactas; igualmente es cierto que tanto las *Exoasceas* como los *Saccaromyces* son organismos independientes que tienen las mismas fases morfológicas de desenvolvimiento, y que por último los *Saccaromycetes* deben hasta nueva orden ser considerados como independientes.»

Como podréis ver, no ha sido por falta de debate que esta cuestion no se presenta clara; en efecto, ante opiniones tan divergentes, ante resultados tan contradictorios, y juicios tan diametralmente opuestos no puede uno menos que permanecer perplejo y sin atinar con la salida de semejante caos.

Por otra parte, la experiencia no es tan ingrata ni exclusivista para que pueda hacer tales excepciones que puedan explicar los resultados tan extremadamente opuestos que acabamos de exponer.

Está tan exacta, en cambio, cuando la experimentacion ha sido cuidadosa y metódicamente conducida, cuando es cooperada por la observacion y el raciocinio que es solamente ella, la que nos enseña, y la única garantía de los hechos verdaderos.

Pero, si analizamos detenidamente los hechos que constituyen ese extenso y zarandeado debate, podemos llegar en gran parte á la explicacion de las causas que le originaron.

En efecto: Tulasne y sus contemporáneos incluian bajo el nombre de *conidias* ó esporos micelianos, los hongos y las bacterias, sin hacer distincion alguna, y en efecto, Robin nos dice que son estas *conidias* las que producen la fermentacion alcohólica (levaduras), panaria y amonia-

cal, etc., las que se desenvuelven al estado de filamentos que representan el micelio de los Oidiüm, Penicillum etc. así como lo habia avanzado Hallier en 1865 y 1868.

Es más explicito aun, cuando luego de algunas consideraciones á este respecto, y oponiéndose á toda idea evolucionista dice: «Pero ni en un caso ni en el otro se puede decir que ha habido transformismo en el sentido de trasmutacion de *Spécie in Spéciem*, no se trata mas que de *polimorfismo*.

Este concepto igualitario, y estas consideraciones de Robin, nos explican de una manera elocuente las causas ú origen de las opiniones de Pouchet, Hoffman, Hallier, Trecul, Berkeley, etc., puesto que juzgando tan solo por la forma, no establecían distincion alguna entre las conidias de los hongos, las bacterias y los saccaromyces, y fué este mismo error el que trató de demostrar Pasteur cuando en sus experiencias sobre el *mucor racemosus* en su vida *anaerobia*, demostró que esas levaduras al ser transportadas á medios convenientemente aerados, reproducían nuevamente el mucor.

Yo omito desde luego, las consideraciones aducidas por este ilustre sábio sobre la vida anaerobia del mucor conocido por fenómeno de Brefeld, y que aunque no en total y absolutamente verdaderas, fueron el fundamento de su doctrina sobre la fermentacion.

En efecto: Si se tiene en cuenta que los hongos producen en su fructificacion, células de forma de levadura, como ha sido observado por Cuboni, por de Bary y Loew, Brefeld, Duclaux y Laurent, etc., bien pronto puede apreciarse el origen de esta confusion.

Además, esto deben añadirse las interpretaciones erróneas á que se prestaron las deficiencias de las clasificaciones, y es por esto que de Bary en una de sus memorias, lamentando los distintos criterios de apreciacion, y la confusion que semejantes clasificaciones ocasionaban, protestó particularmente contra la de Brefeld por ser la mas reciente, y colocó entonces los Saccaromyces al lado de las Exoasceas, que luego con arreglo á las ideas de Rees, Hansen y Engel, les fijaron como caracteres propios de los Saccaromyces, la produccion de esporos endógenos, la yemacion y la propiedad de producir fermentaciones activas.

Esto dicho, sin que implique desde luego, establecer un juicio *à priori* sobre la veracidad relativa que puedan tener las experiencias de Jörgensen, no obstante la retractacion de Jülher que hemos visto en el curso de esta exposicion.

Ahora bien: al tocar este punto, en las consideraciones y enseñanzas que esta cuestion nos aporta, véome obligado á repetir aquí, lo que anteriormente os he dicho, con respecto al pleomorfismo y á las clasificaciones.

Dije, señores, en efecto, es fundamental en toda clasificacion científica, la invariabilidad relativa ó dentro de ciertos limites, del carácter en que se base.

He manifestado igualmente, que en principio, los caracteres no son en absoluto permanetes, sino mas bien circunstanciales, y especialmente como lo veremos mas adelante en la bacterias ó organismos monocelulares; tanto la forma como ciertas de sus funciones biológicas son hijas de las condiciones de existencia, modificaciones que pueden hacerse durables y trasmisibles.

Os decía además, que si la clasificacion de los seres superiores ó multicelulares y con arreglo á los principios establecidos, la division de estos seres por su morfologia etc. es aceptable dentro de limites relativos, es absolutamente difícil con respecto á los monocelulares.

Efectivamente, el medio en que se desenvuelven los seres superiores es en general uniforme y estable, la sucesion de los individuos es en extremolenta, y por lo tanto las modificaciones impresas en su organizacion, son igualmente lentas, cosa que no ocurre con los monocelulares, etc.

La limitacion pues en la division de estos y en la forma establecida es absolutamente artificial y es esta desde luego la dificultad que existe y la preparacion que exige su distribucion y clasificacion racional y científica.

Establecí en mi anterior Memoria la existencia de dos estados morfológicos de desenvolvimiento y en cierto modo funcional distintos de un mismo microorganismo, que con arreglo á las actuales clasificaciones, á uno de ellos le corresponde su colocacion entre los Saccaromyces y al otro entre las bacterias Zimógenas.

Las experiencias que me condujeron á semejantes resultados, son tan extremadamente sen-

cillas y rigurosas, que no puede caber de ellas la mas minima sombra de duda.

Por otra parte, el raciocinio inferido de la experimentacion revelando el ciclo en que se mueven en su forma y en su variabilidad funcional, producidas por diversas influencias, llevan el mas profundo convencimiento á la mente, por el fondo comun que en ellas se observa.

Vosotros tendreis presente todo lo que ya hemos dicho acerca del polimorfismo, y solo os recordaré ahora al respecto de la variabilidad funcional además de las experiencias indicadas, las de Duclaux, las consideraciones de este sabio sobre este punto, las experiencias de Perdriz y Grimbert.

Debo además citar la reciente memoria de M. Peré sobre el *bactérium coli commune*, aparecida, en el mes de Enero del corriente año, en la que demuestra este autor, que ese microbio, es capaz de originar indiferentemente ácido lactico levógiro, dextrógiro ó inactivo por la influencia de determinadas sustancias, ó segun el azoe del medio nutritivo, se halle al estado de peptona, ó de sales amoniacaes, y los estudios también recientes, de Pottevin en el mismo sentido, con los fermento lácticos.

Es aquí, señores, despues de todo esto, que se revela la pequeñez y la arbitrariedad del valor del término *especie*.

En efecto, si basta determinada forma y funcion para que un microorganismo sea considerado como una especie determinada, en virtud de lo que hemos expuesto, el número de las especies se multiplicaría al infinito.

Los resultados por mí obtenidos establecerian de una manera inconcusa un fenómeno de *mutacion*, un *Discomycete* y un *Schizomycete*, un *Saccaromyces* (célula oval ó redonda esporógena yemante que fermenta las sustancias azucaradas produciendo alcohol etílico) y un bacilo zimógeno (bastones esporógenos ó filamentos sciciparos que fermentan las sustancias azucaradas produciendo sobre todo ácido butírico); y sin embargo no son mas que dos formas diferentes de un mismo microorganismo, producibles reciprocamente, puesto que son originadas por desenvolverse desde su origen digamos así en medios distintos, las que se reproducen luego respectivamente en individuos semejantes.

Si este criterio no es aceptado, debe referirse si se quiere á un fenómeno de polimorfismo y á una elasticidad fisiológica de la funcion ó á la constitucion de una variedad.

Pero hé aqui que tambien flota el valor arbitral de la acepcion polimorfismo, en la forma que hoy se entiende en bacteriología.

Nos dicen que el polimorfismo, se refiere tan solo á las fases *distintas* del desenvolvimiento, ó mas bien al ciclo morfológico de este.

Si se dijera á *modos diferentes* de desenvolvimiento, en hora buena, pero á las fases del desenvolvimiento no caben "en este caso, solo que se acepte la imperfeccion en lo que se quiere interpretar.

Las distintas formas que adquiere el huevo en su desenvolvimiento, hasta llegar á adulto, las que recorre el embrion hasta constituir la planta, sí que son verdaderas fases de desenvolvimiento, que constituyen un ciclo definido, pero ni el huevo, ni el embrion, se multiplican produciendo otros huevos y embriones semejantes á ellos.

Los distintos fenómenos de polimorfismo expuestos, el micrococcus prodigioso no pasa á bacilos ó á espirilos, sino en determinadas circunstancias; mientras estas no existan él se reproduce en su misma forma respectivamente.

La bacteridia carbonosa filamentosa asporógena de Roux que así se llama porque no puede producir esporos propiamente dichos y que se multiplica solamente en filamentos semejantes; los fenómenos de ditropismo observados por Gamaleia, etc.

No es ciertamente el sutil filamento del *bacillus amylobacter* observado por Van Tieghem, el que produce la célula redonda que él tambien ha observado en su bacilo, y tengo por mi parte grandes dudas, con respecto á la exactitud del modo de germinacion que para esa él nos establece; pues mucho presumo, de que su célula redonda (*clostrydium*) es análoga á la por mí observada.

De todo lo expuesto, señores, se desprende de una manera lógica y concluyente, que son tan solo *modos diferentes* de desenvolvimiento, y que la forma de los elementos monocelulares, dado lo que á ellos es inherente, depende de las condiciones de existencia, como lo he dicho tambien

en mi anteaíor memoria, con sus correlativas funciones en la forma expuesta.

Dejaremos para mas adelante en el estudio de la célula el tratar esta cuestion en particular.

Como puede verse en el curso de esta memoria, hemos hecho una breve reseña, con las consideraciones principales de las cuestiones provocadas por los fenómenos de variabilidad morfológica y funcional, y cuya causa eficiente ó explicacion la hallamos en los principios á ese respecto establecidos.

De todo ello se deduce que dados los restringidos limites en que se ha encuadrado la nocion especie en las bacterias, no existe en realidad fijeza absoluta en las consideradas como tales, y que si se acepta ese criterio, es necesario considerar como á especies distintas, á modos diferentes de desenvolvimiento de un mismo microorganismo.

Desde luego se advierte que lo importante, ante todo es establecer el fundamento de esta nocion; es decir que si no obstante la aparicion ó desaparicion de caracteres efectuados por la adaptacion, de tal modo que si al alejarse aparecen desconocidos, pueda por lo menos establecerse su relacion.

Fáltanos ahora tratar este otro punto: ¿Son las bacterias originariamente autónomas, ó ellas derivan de algas ó de hongos mas complejos ó elevados?

Un hecho existe evidente, y es la existencia de una unidad de plan biológico tanto en la organizacion como en el funcionamiento de todos los seres.

Es su comprobación, lo que nos aporta diariamente la experiencia, es su completa sancion lo que nos manifiestan todas las ciencias experimentales referidas ó especiales, las que nos enseñan á sorprender á la naturaleza en sus prodigiosos é infinitos fenómenos.

El estudio sintético de esta unidad de *plan biológico*, en la direccíon gradual de sus infinitas ramificaciones, que constituye el proceso evolutivo de los seres, al través del tiempo y del espacio, tenía hasta el presente su razon de existencia, en la amplitud y suficiencia, para explicación de una manera racional y científica de la relacion de los seres organizados entre sí y, con los hechos geológicos y paleontológicos.

Este estudio que conocemos bajo el nombre de filogénio no presupone mas que dos cosas:

1.º La lucha perpétua por la vida, en la cual no subsisten mas que las formas adaptables, y

2.º La variación que ésta origina y su trasmisibilidad por herencia.

Si bien en principio se considera que la evolución puede ser progresiva ó regresiva, por ser las bacterias de los organismos de constitucion mas simple ó citodos, la cuestion en la forma planteada, corresponde á la segunda de las indicadas.

Demostrada su naturaleza vegetal, su inclusion entre las algas ó entre los hongos Schizofitos ó Schizomycetes es explicable por razones de afinidad, y por eso se establece con éstos y aquéllas un grupo comun, las talofitas de Sachs.

En efecto: hipotéticamente, se construyen las líneas de derivacion filogenética, basadas en la organizacion «partiendo de una línea recta y gradualmente ascendente, nos lleva de las algas inferiores hasta las superiores, de esta línea al llegar á las sifoneas, parte una rama que comenzando en los Phycomycetes, nos conduce de una manera gradual y progresiva de una parte á los hongos superiores Gasteromycetes, y de la otra á los mas inferiores Schizomycetes; las algas superiores se unirían á las Characeas de las cuales partiria una rama dicotoma las Muscineas (musgos y hepáticas), luego vendría á unirse la línea que representa las propincuas de las criptógamas vasculares y de estas partiéndose en distintos radios los Helechos, las Preleas, Ofiogloseas, Rizocarpeas y Licopodiáceas; insertada á la rama de las criptógamas vasculares heterosporeas, se escaparia la raiz de las fanerógamas, que comenzando por las Cicadeas se ramifica á las Coníferas, á las Monocotiledoneas, y á las Dicotiledoneas, Sachs.»

Igualmente Saprota y Marion, establecen un punto de transicion (los líquenes) entre las algas y los hongos, constituyéndose estos últimos por una adaptacion de aquéllas á la vida parasitaria.

En efecto; la estructura y el desenvolvimiento morfológico de los phycomycetes, es absolutamente semejante el de las algas sifoneas, particularmente á las *Vaucherias* que son las que forman el lazo de union entre las algas y los hongos; su diferencia consiste como carácter genérico de la clase, en la ausencia de clorofila,

pudiendo por tanto los hongos vivir en la obscuridad más absoluta, y debiendo nutrirse de los elementos esenciales (C. H. O.) ya asimilados por los vegetales clorofilianos.

Según lo que se desprende de los estudios paleontológicos, serían las algas los vegetales primeramente aparecidos; de donde se cree ó más bien se infiere que los hongos han debido formarse por progresion evolutiva de aquéllas, por las condiciones impuestas por el parasitismo.

El sábio naturalista español don Odon de Buenos dice que la existencia del betun, del asfalto, la antracita, y sobre todo los pequeños depósitos de grafito que se encuentran en los gneis del terreno laurentino, no pueden atribuirse sinó á un origen orgánico, seguramente á la carbonizacion de las algas primitivas.

Pero es especialmente á los notables estudios de Saporta y Marion, que debemos mayores datos á este respecto.

Para los autores mencionados han existido dos grandes tipos en la flora marina primitiva; el primero correspondería á los tiempos silurianos, y ya extinguido; el segundo, que apareciendo entonces ha podido prolongar hasta ahora su existencia.

Entre las primeras algas actualmente extinguidas se hallarian las Alectorurideas, que han debido constituir una familia aparte y de la cual los antiguos representantes, pertenecen al paleozóico siluriano inferior; mientras que las mas recientes alcanzarian al decline á los tiempos terciarios.

Igualmente á éstas las Bilobitas (1), las Arthoficeas y las Paleoficeas, aunque constituyendo un ramo lateral distinto y extinguido despues de una inmensa duracion, éstas se revelan sifoneas provistas de filomas unicelulares y por cuyo motivo semejantes á las Codiceas, á las Caulerpeas y á las Udotieas.

(1) Para el doctor Nathorst de Stockolmo los Bilobites, Chrossocorde, etc., son impresiones mecánicas producidas por crustáceos ú otros invertebrados, al arrastrarse sobre sedimentos blandos; iguales objeciones hace con respecto á los tipos Eophyton, Spxiophyton, etc.,) Nuevos datos sobre esta cuestion parecen definirla contrariamente á este modo de ver, y en favor de las ideas de Saporta y Marion.

Paralelamente á éstas y teniendo por punto de partida, tambien el período paleozóico siluriano, serían las condriteas, algo semejante particularmente á los géneros actuales *Cordaria* y *Cladosiphon*, las que han desaparecido luego á la mitad del neozóico.

De suerte, que es á un tipo de algas inferiores, las sifoneas, que se pueden referir los tipos primordiales desaparecidos, al lado de los cuales otros tipos igualmente inferiores, han podido persistir y existen hoy, aunque en número cada vez mas restringido.

Entre éstas, por ejemplo, se cuentan las Dasicladeas, que pueden considerarse análogas á las *Cymopolia* y *Acetabularia* actuales; de estas Dasicladeas, las menos recientes pertenecerían al género diplópore Schiff (*Gigoporella* Gumb) y en cuanto á los otros géneros y especies de esta familia, unos se han extinguido, y los otros en número cada vez mas limitado y degenerados viven aun en vías de extinguirse.

Para Cornil y Babés, las bacterias han aparecido con toda probabilidad, entre los primeros vegetales.

Fundaasen, para ello, en su existencia en la época geológica del carbon; pues Van Tieghem las ha hallado en la corteza de las coníferas carbonizadas del carbon de piedra.

En nuestro concepto, esta opinion de Cornil y Babés, fundada en lo referido por Van Tieghem, no contraviene absolutamente el transformismo de las algas en hongos, ocasionado por una adaptacion de aquéllas á la vida parasitaria, puesto que requiriendo los hongos para su nutricion la existencia de sustancias terciarias, formadas por vegetales clorofilianos, fluye lógicamente la reflexion de que ellos no pueden haber existido ni antes ni al mismo tiempo que las algas, desde que debiendo vivir únicamente de los elementos asimilados por ellas, imposible debió ser su existencia antes de la de los organismos aptos para formar estos elementos.

En efecto, si se recuerdan las consideraciones que hemos expuesto sobre los fundamentos de la filogénia con respecto á la existencia de una unidad de plan biológico en todos los seres organizados, que se revela desde el mas simple al mas complejo, por una série de transiciones graduales y perfectamente armónicas; de la herencia, de la variabilidad morfológica y fun-

cional impuesta por las condiciones de existencia, de esa dependencia del ser del medio, de ese incesante conflicto entre la materia viva ù organizada y la materia muerta ó mineral.

En este largo y lento á la vez que múltiple y en extremo ramificado proceso evolutivo, que nos conduce sucesivamente y por líneas divergentes, desde las formas mássimples á las más complejas, es que se ha buscado el génesis de la diversificación de los seres organizados, explicándolo ya sea en las oscilaciones térmicas y en las distintas distribuciones geográficas del suelo, producidas por la emergencia de las tierras y por el enfriamiento parcial del globo al través de los tiempos; de donde la multitud de fenómenos derivados de estas causas imprimieron en los organismos el sello de su existencia y dando como consecuencia la diversificación.

La confinación de los organismos, ó su extensión, á las diversas regiones constituidas y la adaptación á estas regiones y á sus variantes climáticas serían el legado actual que se nos conserva dentro de una relativa estabilidad, mientras que otros, como los tipos más notables de las criptogamas han desaparecido y las supervivientes que se han ido adaptando, han disminuido de talla y de vigor, de tal modo que las actuales, por su organización y estructura no vendrían á representar en realidad más que un prolongamiento atenuado de las primitivas.

En cambio de una rama criptogámica es que surgieron las fanerógamas, estas á su vez se dividieron en dos y de estas la mas reciente, no obstante ser la mas debil en su origen, terminó por prevalecer.

En muchas de estas para Saporta y Marion la evolución sería creciente, y se transformarían en detalle á nuestra vista. Esta para los autores mencionados sería la causa de las nimias diferencias que se observan en ellas.

Así pues si la razon del mundo viviente, reside en la suceción de los individuos, que derivan de individuos preexistentes, por cuanto la renovación incesante se impone porque constituye la continuidad, es en esto á su vez que reside la razón de la evolución en el tiempo y en el espacio.

Y es así que para Saporta, los hongos han debido formarse por una metamórfosis regresiva,

ocasionada por adaptación de las algas primitivas á la vida parasitaria.

¿Ahora bien, fuera de las consideraciones anunciadas al respecto, existen otros hechos en la naturaleza que nos revelen ó confirmen de una manera clara y evidente la veracidad de este aserto?

Para poder desechar esa hipótesis, es necesario admitir, que el protoplasma clorofiliano, en cualesquiera que sean las circunstancias en que se halle, es incapaz de perder su especificidad, es decir, su propiedad de ser clorofiliano y por tanto su funcionalidad biológica correspondiente.

Y bien: yo no os diré que eso es posible, os diré mas aún, os diré que eso es real, y que incesantemente se efectúa á nuestra vista.

Desde luego, si al observar el desenvolvimiento de una célula embrionaria vegetal, constituida por una sustancia albuminoide ó protoplasma y un núcleo, sustancia que se presenta á nosotros constituida por numerosas granulaciones refringentes, posiblemente plástidas, infinitamente pequeñas, las que luego al proliferar constituyen colectividades de células de mas en mas diferenciadas, hasta formar el vegetal complejo, cuyas funciones esenciales á su vez se desdoblán en graduales y completamente coordinadas, lo que nos explica el fundamento del principio de Mirbel, de considerar el vegetal en su origen, formado por un simple tegido celular que se modifica diversamente, por efecto de su desenvolvimiento.

Si este hecho de la simple célula embrionaria que diversificándose en su desenvolvimiento, nos hace pensar en la hipótesis de la evolución de la célula primitiva anucleada ó citodo, al traves del tiempo y del espacio, por otra parte nos enseña de una manera elocuente y precisa en la formación de los tejidos fibroso y vascular, etc., y en la funcionalidad que es á estos correlativa, tanto el volimorfismo entendido como ciclo morfológico de desenvolvimiento, como los modos diferentes de este y de que ya he hablado extensamente.

Pero hay mas aún: si se profundiza esa admirable fenomenología, ese mismo cuadro en mi concepto nos enseña con no menos elocuencia, el pasaje ó la adaptación de una manera com-

pletamente natural, del protoplasma clorofiliano ó creador, á la vida parasitaria.

Y creo que no sea aventurado el decir, que solo en virtud de esa metamórfosis progresiva mas bien que regresiva, impuesta por la vida de dependencia ó colectiva, que se forma la flor; es precisamente la formacion de este órgano, lo que nos manifiesta con inimitable esplendor, con absoluta elocuencia, la completa analogía que existe en la esencia del proceso de la metamórfosis que dá lugar á la formacion de ambos; el hongo del alga y la flor del protoplasma clorofiliano.

En efecto; es atributo esencial del protoplasma clorofiliano como ya hemos dicho, el fijar el carbono atmosférico y construir con una molécula de agua combinaciones ternarias; es esta propiedad la que caracteriza á los vegetales verdes.

Y es en realidad, la pérdida de este atributo esencial lo que observamos én la formacion de la flor; es el protoplasma de las hojas, esencialmente clorofiliano, el que se modifica ante nuestros ojos, para constituir sucesivamente desde la bráctea al cáliz, de éste á la corola, de ésta á los estambres y así progresivamente; y es esta modificacion de extructura que marcha correlativamente á una modificacion de funcion, en cuya metamórfosis pierde su atributo esencial de clorofiliano, de fijar el carbono atmosférico y constituir con él combinaciones ternarias; en cambio no nos origina, ó nos origina solamente pigmentos derivados ó supernumerarios, y por eso le vemos que su nutricion, la debe hacer á expensas de los elementos asimilados por las partes verdes del vegetal, transformando los compuestos ternarios ó hidratos de carbono en cuaternarios ó albuminoideos.

Es por esta necesidad de nutrirse de elementos ya asimilados, por el resto del vegetal, que ella viene á ser un verdadero parásito de éste; es por este motivo, que á la aparicion de la funcion generatriz en todos los seres el crecimiento se detiene, y en otros al efectuarse ésta, les ocasiona la muerte como ocurre por ejemplo en los vegetales, con las monocarpeas.

Es así, pues, que la flor no constituye un elemento esencial á la vida del conjunto, sino que es tan solo un órgano de mision determinada, requerida solamente para la conservacion de la especie.

La analogía pues salta á la vista, en la demostración del fundamento esencial del fenómeno de la aptitud del protoplasma clorofiliano de evolucionar en su funcionalidad y en su estructura, y la similitud biológica de ambos casos, hija probablemente también en ambos, de la misma causa.

Breve, en una palabra, si tomamos por ejemplo un líquen, hallamos en él representada la flor y la planta, el alga serian las partes verdes clorofilianas, la planta, con su funcionalidad correspondiente, y el hongo la flor, producida por evolución del protoplasma clorofiliano.

Desde luego, si nos penetramos en la intimidad del proceso biológico, observaremos aún mas los estrechos vínculos que existen ó mas bien dicho, las gradaciones que esta metamorfosis representan. Es incuestionable y fuera de toda duda, que el elemento esencial, el factor verdadero de la síntesis asimilatriz ó de la reducción, es el protoplasma, su funcionalidad, desde luego sujeto á la variabilidad, puede sernos presentar bajo diversísimos aspectos.

Es completamente admitido, que la clorofila es producida por un desdoblamiento del protoplasma, su misión es la de absorber las radiaciones luminosas, y cediendo esas energías al protoplasma, éste reduce el ácido carbónico y construye sintéticamente los compuestos orgánicos; al mismo tiempo, la clorofila, disminuyendo la intensidad de los fenómenos respiratorios del protoplasma, evita el desgaste por éstos producido, y por tanto favorece en extremo las reacciones sintéticas.

En esta opinión de Pringsheim, Ray Lankester cita en su apoyo la aptitud que posee el protoplasma de los esquizomycetes, de descomponer combinaciones de ácidos orgánicos (acét. de amoníaco por ejemplo), y que á pesar de no tener clorofila combina el hidrógeno, carbono, oxígeno y ázoe y forma con ellos sustancias albuminóideas. Este hecho ha sido demostrado por vez primera por Pasteur con respecto á la alimentación mineral de las levaduras.

Es pues la clorofila un poderoso auxiliar de la función del protoplasma, el que la origina en determinadas circunstancias; de suerte que no existe una diferencia real en la funcionalidad fisiológica, en el sentido absoluto de la palabra,

sino que no representa mas que una gradación de la misma.

En efecto, como podrá verse mas adelante, en el estudio especial de la célula, en la formación de la clorofila y de los pigmentos supernumerarios, así como no todos los vegetales considerados como algas contienen clorofila, no todos los hongos considerados como tales carecen de la propiedad de formarla en determinadas condiciones.

A este respecto, yo poseo un *aspergillus* perfectamente caracterizado, que en determinadas circunstancias produce clorofila; además de que no es misterio la formación de pigmentos supernumerarios, por los hongos xantofila, ficocianina, ficofeina, etc., como lo produce tambien en determinadas circunstancias el protoplasma de las flores, no obstante haya quienes afirmen que no son iguales.

Los resultados de mis investigaciones químicas y espectrales á este respecto, me han permitido apreciar su absoluta identidad.

Igual cosa podemos decir con respecto á las bacterias. La presencia de clorofila, como propiedad de determinadas de ellas, está expresada en la definición de Nencki.

El número de especies clorofilianas, aunque por el momento reducido, comprende las bacterias descritas y estudiadas por Van Tieghem y Engelman; las que en presencia de la luz se comportan en su funcionalidad al igual de las plantas superiores. Estas bacterias forman un grupo especial, y fueron denominadas cromóforas por Beijerinck.

Esto sentado, veamos: ¿Qué lugar le corresponde á las bacterias? ¿Cuál es su verdadera derivación filogenética?

Desde luego, la primera será fácil una vez sea conocida la segunda.

Kruse respecto de la derivación filogenética, emite la hipótesis de que ellas, derivan probablemente de las Streptoptriceas, ó de las Ficocromaceas.

Igualmente á este sugeto, Brefeld piensa que las bacterias derivan posiblemente de hongos mas elevados, los que perdiendo sus órganos de fructificación, sus descendientes así simplificados, no pueden reproducirse mas que por scision.

Por las experiencias que seguidamente expondré, podrá verse la confirmación de esta última

hipótesis, en el sentido general en que está concebida, á la vez que la primera de las de Kruse.

En efecto, en esta simplificación de hongos elevados á bacterias, las Streptotricáceas representan el punto de transición de esos hongos á las bacterias, ó sea el puente de pasaje que nos conduce reciprocamente de las unas á las otras.

Hé elegido para esta exposicion experimental de los varios hongos que tengo en estudio, una simple mucedinea, uno de los hongos de estructura mas simple, y que forman un tipo especial por su fructificación denominado *Oidium Rob*; el hongo que vamos á estudiar es el *Oidium lactis*.

Este es un hongo saprofito, común sobre todo en la leche, por cuyo motivo Fresenius le ha denominado *lactis*; se halla igualmente en los granos de Kefir, sobre el pan, estiércol y frutas podridas, en forma de masas blancas y sedosas, se observa tambien con frecuencia en el mosto de cerveza una vez terminada la fermentación, y sobre todo cuando ésta es pobre en alcohol.

Hasta el presente, ha sido incluido en diferentes grupos, Saccaromycetes, Ascomycetes, Exoáceas, Perisporiáceas, Carpoascos (*Erysypheas*), por Brefeld; igualmente ha dado lugar á diversas cuestiones. Por una parte se ha tratado de demostrar, que él no representa mas que una fase del desenvolvimiento de otras especies, estableciéndose al efecto, relaciones genéticas con el *Chalara*, con los *Saccaromyces* y fermentos lácticos, y por otra parte Grawitz ha pretendido demostrar su identidad con los hongos de la tiña favosa, (*Achorion Schanleinii*) de la pytiriasis versicolor (*Microsporon furfur*) y del hérpes tonsurante (*Trichophyton tonsurans*).

Esta opinion fué controvertida por Flügge; pero sobre todo despues de las experiencias de Duclaux y de Vérusjki, es que se ha dado por resuelta esta cuestion; de ésta resultaria, que las formas de sufrimiento del *Achorium* y del *Trichophyton*, ocasionadas por deficiencias nutritivas, como son las que se desarrollan en la piel humana, son las que han hecho incurrir en error á Grawitz, quien dijo mas tarde que en efecto era esa la causa de su error, al mismo tiempo, que consideraba muy distintos los primeros al *oidium*.

En cuanto al primer punto, respecto á su identidad con los *Saccaromyces* etc. fué contravertido, luego de numerosas y variadas experiencias

por Brefeld y Hansen, como lo fué igualmente despues por otros autores. La historia de esta cuestion podrá verse en el resúmen expuesto, del mismo modo que se encontrará en él, el análisis y la interpretacion de los hechos que originaron esas hipótesis, por cuyo motivo, nos creemos excusados de insistir nuevamente sobre ella.

Yo me he servido en mis experiencias, de un oidium extraido de los granos de Kéfir. Para esto puede procederse del siguiente modo: se humedecen los granos con un líquido láctico azucarado, y se les deja á la temperatura ordinaria; á las 50 horas, se puede ver que los granos se hallan cubiertos de numerosos y ténues filamentos sedosos blanco brillantes.

Tomados los filamentos se siembran en líquido de Raulin, luego de algunos pasages, se preparan placas de gelatina de donde se le extrae puro y se trasporta de nuevo al líquido de Raulin.

No obstante su variabilidad morfológica que estudiaremos particularmente en cada caso, los caracteres morfológicos, pueden expresarse en general en los siguientes:

Micelios, constituidos por filamentos ramificados y hendidos, de espesor sumamente variable, cuyas extremidades se presentan en general en forma de horquilla, otras veces, células redondas, ovaladas, cuadrangulares ó piriformes, su tamaño medio es de $7\ \mu$ á $10\ \mu$, su ancho, $6\ \mu$ á $9\ \mu$, la longitud de los Hyfos es sumamente variable, y su ancho es en general de $2\ \mu$ á $4\ m\mu m$. ó más.

Estas células, se presentan constituidas por una vaina ó envoltura que no absorbe la materia colorante, una parte mas central granulosa coloreable, y vacuolas que contienen un líquido ligeramente amarillento y granulaciones que absorben y retienen con mucha fuerza la materia colorante.

Resiste el Gram, y algunos autores pretenden que es suficiente la percepcion de la manera de conducirse del Oidium con este procedimiento, para diferenciarle del Tricofiton y del Achorion.

El agua iodada le colora ligeramente de amarillo, coloracion que es mas intensa en las partes granulosas ó protoplasmáticas; no nos presenta nada de particular con el iodo y el cloruro de zinc, con el reactivo de Raackofer, con el ácido nítrico, amoniaco, etc.

Su multiplicacion es siempre por formacion de células endógenas, que pueden quedar libres por ruptura ó por destruccion de la pared envolvente, ó bien puede manifestarse por *scision*, dependiendo esto último desde luego de la forma de los elementos.

Jörgensen dice haber hallado un *Oidium* que se multiplica por yemacion; esto se observa, en circunstancias especiales provenientes de las condiciones de la membrana envolvente.

La temperatura mas favorable para su desarrollo oscila entre 25° y 32°.

Este hongo se desarrolla en el líquido de Raulin bajo la forma de agujillas de longitud variable; sedosas, blancas y apelmazadas que se difunden por el líquido, ó que constituyen en velo primeramente en forma de lijerisima película; formándose luego pequeñas y numerosas esféras cupuliformes, blancas, sedosas y brillantes, las que intensificándose en su desarrollo terminan por cubrir toda la superficie del líquido, hasta formar una gruesa capa.

Cuando los cultivos son viejos, algunas de las agujillas, filamentosas, se adhieren á las paredes del recipiente dándole aspecto de esmeril. En la superficie del líquido solo se observa una lijerisima película, mientras que hay en el fondo un abundante sedimento, unas veces reblandecido, en forma de masa gelatinosa y otras en forma pulverulenta.

Yo he reemplazado ventajosamente para el cultivo de éste y de otros hongos, el líquido de Raulin, por el de la siguiente composicion:

Acidoláctico.	gramos	20.—
Glicerina.	»	50.—
Fosfato de sosa.	»	0.50
Fosfato de amoniaco.	»	3.—
Nitrato de potasa.	»	1.—
Sulfato de hierro	»	0 10
Sulfato de magnesia.	»	0.30
Agua	»	1000.—

Distribuido convenientemente se esteriliza en el autoclave á 120°.

En este líquido se desarrolla en mas abundancia y con mayor rapidez, pero los caracteres de éste son iguales á los descriptos para el líquido de Raulin.

Caldo de vaca sin azúcar. Agujas largas sedosas de color blanco difundidas en el líquido,

otras veces y esto dependiente de la temperatura, se desarrolla en forma de glómérulos radioformes, ó pompones, en los que se vé un centro comun del cual parten numerosos filamentos para formar una bola.

Caldo de vaca azucarado. Desarrollo abundante especialmente en la superficie del liquido en forma de velo mas ó menos compacto blanco, sedoso y apelmazado y con ligeras proeminencias cupuliformes; envejeciéndose cae al fondo en forma de película ó de masa.

En este liquido no se observa la mas mínima fermentacion. Además conserva su reaccion inicial, y solo se observa una ligerísima acidez durante el período de reblandecimiento, al envejecerse el cultivo.

Caldo con azúcar intervertido—Iguales caracteres al anterior.

Id Glucosado—Id id id id.

Id Lactosado—Id id id id.

Id Galactosado—Id id id id.

Id lactosado con la ca $O, C O^2$ —Id id id id.

Suero de leche—Id id id id.

Id id id—Id id id id.

Mosto de cerveza—Id id id id.

Zumos de frutas grosella, membrillo frambuesa con desarrollo abundante con los caracteres indicados.

Caldo glicerinado—Id id.

Brefeld, Lang y Freundereich, le asignan á este hongo la propiedad de fermentar, aunque en grado débil, las soluciones azucaradas, especialmente las de glucosa.

El hecho es perfectamente exacto; pero solo ocurre en determinadas circunstancias y en virtud de las causas que estudiaremos mas adelante á este respecto.

Medios sólidos—En el agar, desarrollo abundante en forma de masa algodonosa blanco brillante.

Agar al liquido de Raulin y láctico—Id id id id.

Gelatina, por picadura, desarrollo abundante en el trayecto de esta, presentando el aspecto de masa sedosa apelmazada intensa en el centro, partiendo de los bordes de la picadura numerosos y tenuisimos filamentos brillantes.

En la parte superior forma una masa blanca algodonosa brillante, de la cual parten en todas direcciones y rastreando la superficie tenuisimos filamentos formando de este modo una esfera.

Al cabo de algun tiempo, suele licuarse la gelatina.

Sembrado por estría en la gelatina inclinada, las colonias se observan formadas por un punto ó centro opaco, de color blanco brillante y del cual parten numerosos filamentos en todas direcciones.

Los mismos caracteres presentan las colonias de las placas de gelatina de las cuales las superficiales son muy semejantes á las de los mûcores.

Si se examinan al microscopio estas colonias con pequeño diámetro (180/200 podrá verse que están formadas por cadenas de oidios, presentándosenos bajo el aspecto de rosarios, ó como él de hilos conteniendo numerosas perlas, colocadas simétrica y regularmente paralelas, como en un filamento salido del micelio; de tal modo que si se recorre en la observación especialmente con mayor diámetro las cadenas, puede notarse el tránsito sucesivo del desarrollo de los diversos elementos que la constituyen desde los elementos cilíndricos mas ó menos largos á los fusiformes, y de éstos á otros completamente esféricos.

En el exámen microscópico de la disposición en conjunto de estas colonias, se vé en el centro una agrupación de filamentos articulados más ó menos largos y entrelazados. Son estos los que forman la parte opáca de la colonia. De esta parten en todas direcciones y en forma simétrica filamentos igualmente articulados, libres ó entrelazados, algunos simples, otros ramificados, rígidos ú ondulados.

La longitud y espesor de estos filamentos es absolutamente variable y depende de la edad, y de las demás circunstancias relativas á la aptitud del medio, temperatura, aereacion, etc., pero siempre los del centro de la colonia son los más gruesos, mientras que los de la periferia son delgados, particularmente en razon á su alejamiento de ese, siendo muchos de ellos un simple filamento muy delgado en el centro del cual se observan puntos brillantes.

Es el estudio de la manera de conducirse este moho, cuando se le cultiva en la leche esterilizada, que tiene para nosotros capital importancia.

En efecto: durante los dos primeros dias, despues de sembrado, no se observa nada de parti-

cular, pero es especialmente en la mayoría de los casos al partir de este día, que se percibe que la leche comienza á coagularse; esta coagulación avanza progresivamente, y es completa el quinto día, en que se ven grandes masas alveolares de caseína coagulada que sobrenadan en un líquido transparente, ó que se disponen acoladas á las paredes del recipiente.

Si se agita ligeramente el líquido, se ven surgir inmediatamente numerosas burbujas de gases que acuden á la superficie del líquido, en la cual forman una ligera espuma blanquecina; además el líquido presenta entonces una reacción intensamente ácida; señales evidentes de una fermentación ácida, que es la causa de la coagulación de la caseína.

Si se deja envejecer este cultivo, puede notarse que en la superficie se forma una masa rugosa húmeda en forma amamelonada, gelatinosa y ligeramente teñida de un color amarillento. Agitando el líquido, la masa gelatiniforme se difunde en él, en el cual se disuelve casi totalmente.

Al poco tiempo, los coágulos de caseína se reblandecen y se dividen en grumos sumamente pequeños, los que se emulsionan de nuevo en el líquido, el que adquiere su fluidez primitiva.

La intensa fermentación producida por este moho cuando se le cultiva en la leche, y que acabamos de describir, llamó grandemente nuestra atención, por cuanto nuestro hongo, como ya lo hemos dicho anteriormente, no nos producía fermentación alguna al cultivarle en los otros líquidos ya enunciados, que tienen en su seno las sustancias fermentescibles de la leche; y fué entonces que nos propusimos estudiar la causa de esta diferencia de acción.

Otra de las causas que contribuía igualmente á hacer más interesante esta cuestión, es la de que si se siembra el líquido de la fermentación de la leche en caldo azucarado, lactosado, glucosado, etc., se produce al cabo de 24 horas una intensa fermentación, al mismo tiempo que se forma en la parte superior del líquido una masa mucilaginosa, que hace la superficie espumosa y le dá al líquido una consistencia viscosa.

Fueron pues estos dos hechos, es decir:—1.º la propiedad de este hongo de fermentar intensamente las sustancias azucaradas de la leche, propiedad que no poseía, cuando estas mismas sustancias se hallaban disueltas en el caldo, y

2.º la de fermentar igualmente con intensidad las soluciones de esas sustancias azucaradas, cuando se las sembraba el hongo procedente de la leche, es decir, que en cierto modo, el hongo adquiría por su pasaje por la leche una propiedad de fermentar, que antes de esto no tenía,— el punto de partida de nuestra experimentación y la base de nuestro estudio.

La primer idea que la fermentación de la leche nos sugirió, fué la de que ésta tuviera por causa, ó fuera mas bien la verificación de una manera completamente natural del fenómeno conocido, con el nombre de *fenómeno de Brefeld* con respecto á la fermentación que ocasiona el *mucor racemosus* cuando se le obliga á vivir en condiciones anaerobias en los líquidos azucarados.

Este fenómeno, comprobado por Pasteur, fué por él interpretado como debido á que teniendo el hongo necesidad de oxígeno para vivir, en esas condiciones, lo tomaba de la sustancia azucarada, produciendo entonces la fermentación; fué en esta interpretación que el ilustre Pasteur fundó su principio general de la fermentación, como resultante de la vida sin aire, principio que hoy ha perdido gran parte de su valor, como lo han demostrado Hueppe y otros.

Infería la explicación de la fermentación de la leche, con arreglo á la interpretación de Pasteur, del hecho de que la crema ocupando luego de algun tiempo de reposo, la superficie de la leche impidiendo el contacto del aire, hacía la vez de capa aisladora; resultando entonces un verdadero y perfecto cultivo anaerobio.

A fin de verificar, si realmente era esa la causa de la fermentación, esto es, la vida anaerobia del hongo interpretada en la forma expuesta, efectué con ese objeto, cultivos anaerobios en caldo azucarado, lactosado, galactosado etc del mismo modo que en suero de leche.

Estos cultivos anaerobios, fueron efectuados por los diversos procedimientos, ora cubriendo la superficie del líquido con aceite, vaselina líquida etc. por el procedimiento de Buchner y por el vacío.

En todos los cultivos anaerobios en los líquidos indicados, el hongo se desarrolla penosamente, y sin producir la mas mínima fermentación.

Este resultado nos evidenció que la fermentacion no era debida á la vida anaerobia del hongo, con arreglo á la interpretacion de Pasteur.

En el deseo pues de constatar esta causa; visto que al cultivar anaeróbicamente el óidium en el suero, caldo lactosado, galactosado, azucarado, etc. no ocasionaba la más mínima fermentacion; y que se multiplicaba en esas condiciones, aunque menos vigoroso sin grandes modificaciones, excepto ligeras variaciones en la forma, traté de hallarla en alguno de los componentes de la leche,

A ese efecto procedí en la siguiente forma:

Primeramente coagué 200 cc. de leche, por medio de ácido láctico, coagulacion que fué acelerada por la ebullicion; separado el coágulo de caseina, fué profusamente lavado con agua caliente, y luego fué incorporado lo mas homogéneamente posible en un líquido salino, ligeramente alcalinizado por sosa cáustica. Despues de distribuirlo convenientemente fué esterilizado en el autoclave á 125°.

El suero obtenido de la coagulacion de la leche fué neutralizado, distribuido é igualmente esterilizado.

Estos dos líquidos fueron sembrados con cultivos del Oidium en caldo lactosado; sembrándole al mismo tiempo en leche rigurosamente esterilizada.

Una vez sembrados estos líquidos, fueron colocados en la estufa á la temperatura de 32°.

En el primero de los líquidos, que presentaba un aspecto y opacidad ligeramente lechosa, se pudo notar á los dos ó tres dias, una marcada disminucion de la opacidad que denota una digestion parcial de la caseina; al quinto ó sexto día se nota en la superficie del líquido la presencia de un velo rugoso al mismo tiempo que á la vez que el líquido se ha aclarado grandemente por la disolucion de la caseina, ha adquirido una consistencia viscosa.

Si se examina este líquido al microscopio despues de colorear la preparacion; pero teniendo la precaucion de lavar antes de la coloracion, la preparacion fijada con sosa débil ó amoníaco diluido, se observan numerosos filamentos imperfectamente coloreados, de distinta longitud, muchos de ellos constituyendo amas tubulares, envueltos en una sustancia gelatinosa; observándose al mismo tiempo pequeños elementos de

forma bacilar en navecilla, mas ó menos ovalados y provistos de pequeños espacios claros que ya ocupan el centro ó las extremidades.

Si se hacen pasajes de este cultivo en caldo azucarado, lactosado, suero de leche, etc., tanto aeróbicamente, como anaeróbicamente se observa primeramente un enturbiamiento de los líquidos al mismo tiempo que una lijera fermentación; luego se forma en todo el interior del tubo y adherido á sus paredes, á guisa de forro interno, un tenue y delicado velo, del mismo modo que en la superficie del líquido, donde es mas espeso rugoso y friable, que produce reflejos nacarados.

Al exámen microscópico, presenta más ó menos los caracteres enunciados en el del líquido caseína; si bien estos son más facilmente coloreables, y tienen una forma mejor definida, observándose igualmente envueltos en una ganga amorfa gelatinosa.

Después de varios cultivos en los líquidos mencionados, puede observarse, que á medida que se hacen nuevos pasajes, tanto el velo superior como los interiores son sumamente blandos ó mucilaginosos, observándose estos últimos como copos peliculosos gelatinoideos, formando especialmente en el caldo lactosado en la parte inferior del velo superficial una ganga mucoide de una coloración rojo-vinosa débil.

Sembrados en la leche y colocados en la estufa á la temperatura de 32° la fermentan con las siguientes particularidades: el coágulo, es en este caso sumamente dividido, de tal modo, que permanece casi emulsionado, y por tanto, diferente de la coagulación alveolar de que hemos hablado anteriormente; además, en esta leche á los pocos días se percibe un olor especial, desagradable, igual al de los quesos maduros, particularmente al del queso Camembert; sembrada esta leche, en los caldos arriba indicados, éstos á las 30 horas, presentan un aspecto completamente turbio y una lijera fermentación; el velo que en estos se forma es sumamente sutil y no es friable como el descripto anteriormente; si se rompe agitando ligeramente el líquido cae al fondo del recipiente en forma de sùtiles películas; estos cultivos envejeciéndose, se aclaran y presentan un depósito blancuzco mucoide.

El microorganismo de estos cultivos, luego de varios pasajes por leche y caldo azucarado se nos presenta bajo la forma de pequeños elemen-

tos bacilares móviles de 3μ á 4μ de largo por 1μ á 1.5μ de ancho, ligeramente ovóides, naviculares, aislados ó despues de dos ó mas elementos.

Absorbe fácilmente los colores de anilina, el Gram, no dá la reaccion de la granulosa y es facultativo.

Sembrado en la superficie de agar inclinado, los cultivos se presentan bajo la forma de un ligerísimo velo transparente algo rizado, que al cabo de algunos días tiene el aspecto de capa seca opaca y algo rugosa; los cultivos por picadura no presentan nada de particular.

Sembrado en la gelatina la fluidifica con bastante rapidez, de suerte que en las siembras por picadura la fluidificacion del trayecto de ésta, toma una forma embudada.

De los otros cultivos del *Oidium*, los en el suero de leche, no presentaron nada de particular en relacion á los enunciados al respecto; en cuanto á los cultivos en la leche esterilizada los caracteres son los mismos que hemos descripto; es decir, fermentacion intensa con formacion de grandes coágulos alveolares de caseína, en medio de un líquido transparente, viscoso en su parte superior, etc., etc.

Ahora bien si se hacen pasajes de estos cultivos del *oidium* en la leche, á caldo azucarado, lactosado, etc., se observa en breve tiempo una fermentacion intensa; el líquido se presenta completamente turbio y algo viscoso, con copos blanquecinos en suspension, mientras que en la parte superior y arrastrada por la espuma, se forma una ganga mucilaginosa que contiene masas algodonosas.

Al cabo de algunos dias, la fermentacion se detiene, el líquido se aclara completamente, al mismo tiempo que disminuye la viscosidad, presentando entónces un sedimento blanco caseoso que ocupa la parte inferior del líquido; éste presenta una reaccion fuertemente ácida.

Si examinamos al microscopico, el líquido claro resultante de la fermentacion de la leche, ó estos últimos cultivos descriptos en el caldo azucarado, podemos observar la presencia de hifos, que han sufrido de una manera incompleta una degeneracion mucilaginosa, en medio de una ganga mucoide.

En muchos de estos, en todo ó solo en parte de su interior, se observa una delgada franja

formada por granulaciones fuertemente coloreables; en muchos casos no se observa esta zona granulosa, observándose en cambio numerosos quistes, en forma de bolsas colaterales, fuertemente colatereables, percibiéndose al mismo tiempo algunas de esas bolsas completamente vacías.

Se observan igualmente algunos hifos que conservan su forma, y que no absorben la materia colorante, ó que solo lo hacen en algunas partes, en forma de granulaciones sumamente pequeñas; estos se presentan como lignificados, numerosos de ellos completamente vacíos, ó conteniendo en su interior numerosos corpúsculos relativamente pequeños, que absorben fuertemente la materia colorante, y que se hallan dotados de un intenso movimiento titilante, á la vez que recorren de una manera verdaderamente vertiginosa la vaina leñosa de un extremo á otro; se observan además numerosos cocos móviles, aislados ó dispuestos en alteras y envueltos en una ganga gelatinosa que semeja á una cápsula envolvente del mismo modo que á formas bacilares.

Si con estos cultivos se preparan placas de gelatina, se obtienen sobre todo, al partir del tercer día, numerosas colonias; unas, correspondientes al oidium incompletamente degenerado, las que se hallan formadas por ténues y numerosos filamentos rizados que contienen en su interior multitud de granulaciones refringentes, sobrepuestas á lo largo de los filamentos, y que se observan cuando se examinan á 200 diám. estas colonias, las que se presentan bastante diferentes de las que proceden del líquido láctico ó del de Raulin.

Las otras colonias que se observan se presentan bajo la forma de pequeños puntos blancos, en el interior ó en la superficie de la gelatina; estas últimas son ligeramente salientes de color blanco-mate con un lijerísimo dicroismo azulado.

Examinadas al microscopio 200 diám., presentan una constitucion finamente granulosa, transparentes, y con un tinte gris amarillento; estas son esféricas, reniformes, algunas con una zona en forma de núcleo mas oscuro, presentándose muchas de ellas semejantes á leucocitos.

Preparando nuevas placas con cultivos procedentes de una de estas colonias, despues de

algunos días se puede observar que muchas de las colonias desenvueltas, cambian de coloración, percibiéndose entonces colonias blancas, y otras de color amarillo de Nápoles y de cromo; esta distinta coloración de las colonias, impresionan de pronto, como debidas á la existencia de distintos microorganismos, pero si se examina con atención la placa, puede verse que las colonias coloreadas son solamente las que se hallan en la superficie de la gelatina, cuya coloración se intensifica poco á poco, hasta hacerse amarillo dorado: en cambio las del interior de la gelatina conservan inalterable su coloración blanca y su dicroismo azulado.

Examinados los microorganismos de todas estas colonias presentaban idénticos caracteres, siendo la causa de la pigmentación la influencia ejercida por el oxígeno del aire.

Es un fenómeno perfectamente conocido, la influencia del oxígeno en la producción del pigmento en las bacterias cromóporas; pues existe solo una de estas, el *Spirillum rubrum* Esmarch, que lo produce anaeróbicamente; esto es debido á la producción de un leucoproducto que adquiere la pigmentación bajo la influencia del oxígeno, y en este caso se hallan las colonias de nuestro micrococus, como luego me lo demostraron nuevos cultivos en placas, sembradas con microorganismos procedentes de las colonias cromógenas; igualmente en estas placas, las colonias superficiales eran pigmentadas, mientras que las que se hallaban en la profundidad de la gelatina no lo eran; además en cultivos en gelatina y en agar anaerobios la pigmentación no se produjo.

Estas colonias se hallaban formadas por un micrococos de 1μ á 1.3μ de diámetro, que en los medios líquidos, se presentan aislados, ó dispuestos en alteras; estas son simples, ó dobles en forma de cistide particularmente en ciertos líquidos mucilaginosos, decocción de raíz de malvavisco, cetraria y carragahen; absorbe con facilidad los colores de anilina más comunmente empleados, y se colera por el procedimiento de Gram.

Este micrococos es facultativo, y se desarrolla bien en los medios líquidos comunes, enturbíandolos uniformemente, produciendo después de algunos días, en el fondo del recipiente, un depósito blanco de consistencia mucoide.

En los cultivos azucarado, lactosado, glucosado se desarrolla con fermentacion visible, produciendo ácido láctico.

Los cultivos en el agar inclinado ofrecen los siguientes caracteres: numerosas y pequeñas colonias redondas blancas ligeramente húmedas y brillantes, que luego se hacen amarillentas, algo prominentes, y con bordes lisos que se funden entre sí con facilidad, formando entonces una capa húmeda, de superficie completamente lisa y de aspecto céreo.

No fluidifica la gelatina; los caracteres de sus colonias en las placas ya los hemos descripto; en cuanto á los de los cultivos por fisura, se presentan bajo la forma de numerosos granos sobrepuestos en todo el trayecto de la fisura, formándose en la parte superior, ó sea en la superficie de la gelatina y contigua al punto de la inoculacion una capa lisa y de aspecto igualmente céreo.

Ahora bien: como puede verse por lo descripto, hemos separado de la leche sembrada con el oidium, por medio de los cultivos en placas de gelatina, un micrococos del cual acabamos de enumerar algunos de sus caracteres; por tanto, era importante saber si éste procedía del cultivo del oidium empleado por impureza de éste, ó si procedía de la leche, ó por contaminacion en las operaciones ulteriores, ó si procede por degeneracion del hongo; y fuera éste por tanto la causa de la fermentacion de la leche observada, objeto de las operaciones que acabamos de exponer.

El cultivo inicial, procedía de liquido Raulin, y para verificar su pureza preparé placas de gelatina, en las cuales obtuve solamente colonias del iodium; en los caldos azucarados, suero, etc., sembrados con este oidium no se observó la mas mínima fermentacion.

La leche empleada fué siempre rigurosamente esterilizada, y las experiencias de control fueron multitud de veces verificadas, obteniendo siempre el mismo resultado.

Al mismo tiempo podrá recordarse que la diferente manera de conducirse el oidium en la leche con relacion á la de los caldos azucarados, suero de leche, etc., fueron el punto de partida de nuestras investigaciones, y que para explicar la causa de la fermentacion intensa de la leche, efectuamos algunas operaciones é hicimos al-

gunas consideraciones: y que fué la prosecucion de esas experiencias la que nos ha conducido á estos resultados.

En efecto, podemos obtener igualmente el micrococos, naciendo de sucesivos pasajes anaeróbios, en los caldos azucarados, en vez de preparar los cultivos en placa; pudiéndose observar entonces, y especialmente cuando se emplea con este objeto caldo lactosado, abundante microorganismo de forma bacilar.

Yo me he esforzado por aislar por distintos medios placas, diluciones, sucesivas, etc. estas formas bacilares, obteniendo solo por este último medio cultivos bastante puros, pero transportadas estas formas bacilares al agar azucarado, obtenia cultivos del micrococos.

Cultivado en la leche este micrococos se desarrolla fácilmente fermentándola con rapidez y se conduce con alguna diferencia, según sea el cultivo anaerobio ó aerobio.

A este efecto, expondré los resultados de algunas experiencias: Varias matraces conteniendo respectivamente, caldo azucarado lactosado y leche, fueron sembrados con el micrococos; despues de hacer en ellos el vacío, fueron colocados en la estufa á la temp. de 32° y examinados luego de 20 dias.

El exámen de estos líquidos nos dió los siguientes resultados:

CULTIVOS ANAERÓBIOS

1.° Caldo azucarado 2 o/o acidez en ácido láctico por 1000 cc. grs. 1,3016.

2.° id id id id id id id id id 1,0971.

3.° Leche id id id id id id id id id 1,6561.

CULTIVOS AERÓBIOS DE ESTOS MISMOS LÍQUIDOS

1.° Caldo azucarado 2 o/o acidéz en ácido láctico por 1000 cc. grs. 1,5187.

2.° id lactosado id id id id id id id id id 1,3741.

3.° Leche id id id id id id id id id 4,5560.

Aunque existen ligeras diferencias en los núms 1 y 2 en cultivo anaerobio, ó aerobio, estas no pueden tener en realidad mayor significacion que la de una influencia favorable del oxígeno para la fermentacion; en cambio en los resultados obtenidos de la leche anaerobia, ó aerobia, además de la gran diferencia en la acidez, se

puede apreciar que en los cultivos anaerobios hay una visible producción de otros ácidos orgánicos (butírico propionico, etc.); pues ésta despierta el olor del queso Camembert, y de que hemos hablado al referirnos del bacilo.

Como los caracteres descriptos del micrococos, concuerdan con los del *Staphylococcus cereus flavus*, una de las diversas razas de los stafilococos piógenos, efectué algunas inoculaciones en animales de pequeña talla, á fin de verificar su poder patógeno.

Igual cosa he hecho con el bacilo, obteniendo con ambos resultados negativos; pero si se tiene en cuenta que en estos micro-organismos la virulencia es sumamente frágil y considerando además insuficientes las experiencias efectuadas dejen por ahora en suspenso esta cuestión.

Por el momento, detengo en este punto, la exposición de mis experiencias, para entrar de nuevo en ellas, luego de algunas consideraciones que conceptuamos de capital importancia.

Ahora, reasumiendo lo expuesto, hemos visto la obtención de un micrococos y un bacilo, ambos fermentos lácticos, con algunas diferencias en sus caracteres biológicos, procedentes del *Oidium lactis*, merced á la influencia de ciertos medios, y en determinadas condiciones.

Estas consideraciones, ó mas bien el estudio especial de la célula, y las deducciones lógicas, que de él se desprenden, nos lo imponen los resultados experimentales expuestos así desnudos de comentarios, que si bien encuadrados en límites é ideas absolutamente científicos, pueden aparecerá primera vista dudosos, especialmente con arreglo al criterio actual al respecto, con particularidad á la mayoría de los patólogos, é hijos de errores en mis observaciones, ú ocasionados por faltas imperdonables de técnica, contaminaciones posteriores ó empleo inicial de cultivos impuros.

Fué en prevision de estas posibles é injustas, ó más bien prematuras imputaciones, que repetí multitud de veces mis experiencias, ordenándolas metódica y debidamente, y rodeándolas de rigurosos cuidados, á fin de obtener de los resultados la más absoluta certeza.

Hoy por fortuna la técnica bacteriológica, nos ofrece, seguridades tales, que son de sobra suficientes para satisfacer el criterio más exigente y riguroso, y para que los resultados que con

ella se obtengan, cuando es bien adecuada, puedan considerarse absolutamente reales y fuera de toda duda; pero no obstante esto, encontraremos la prueba incontrovertible, como digno corolario de los resultados experimentales, en la explicacion cientifica de los hechos ó más bien de las causas ó fenómenos que nos han conducido á ello.

Para ello, he considerado ante todo necesario estudiar el hongo de una manera completamente particular ó sea la célula; y á la medida de mis alcances, lo más profundamente posible, su estructura, su multiplicacion, y su biología con relacion á los medios.

Son estas pues las consideraciones primordiales que nos han guiado en este propósito.

Excluida de este estudio la célula nucleada, cuyo proceso de multiplicacion karioquinesis es conocido, existen con relacion á la *anucleada* puntos esenciales ó generales de referencia.

La célula en general, por simple que sea, es pues, una individualidad, formada por una agregacion de moléculas ó de particulas heterogéneas ó sean rudimentos embrionarios que en su desenvolvimiento se dirijen con arreglo á un plan perfectamente definido, con una funcionalidad propia, pero en íntima é imprescindible correlacion, á un objeto comun que es la conservacion de la vida del conjunto.

Este todo ó conjunto de agregados, es siempre complejo en un grado de relatividad, ya se trate para el embrion pluriembrionario, ya sea para cada uno de los elementos que de ese derivan; es decir: el conjunto pluriembrionario es complejo con relacion á los elementos diferenciables ó específicos que le constituyen, y estos lo son á su vez con relacion á los agregados invisibles ó particulas que los forman.

Existe además, una correlacion perfecta en el desenvolvimiento de estos agregados, en los conjuntos mas ó menos complejos; esta es forzosa y sus bases primordiales deben hallarse en la creacion, el individuo y el medio, y de aquí la relacion de aquél á éste, como aptitud de longevidad, resistencia natural, multiplicacion, y á las necesidades inherentes á la vida, asimilacion y desasimilacion.

Esto establecido, estudiaremos de esta célula la morfología y organizacion. Tanto en mi anterior Memoria, como en la primera parte de la

presente, hemos dicho que la forma de los elementos celulares, es en extremo variable, é hija siempre de las condiciones físicas del medio.

Ahora bien: es necesario establecer ante todo, ciertas salvedades que son de capital importancia en estudios de esta naturaleza; en efecto, fuera de las modificaciones morfológicas impresas en la célula por las condiciones físicas del medio, existen otras, que tanto en la célula vegetal como en la animal, corresponden á los períodos de transición de la vida á la muerte; estos períodos se manifiestan multiplicemente y en muchos casos por caracteres visibles.

De aquí que sea primordial estudiar las variaciones que son propias del ciclo morfológico de desenvolvimiento, desde el período inicial al de decline, etc., por textura orgánica aquellas que dependen exclusivamente del medio, y aquellas ocasionadas por agentes químicos ó mismo físicos, que atentan á la vitalidad, á fin de poder establecer por medio de la observación los tipos que deben considerarse como normales, y los que deben considerarse como anormales ó patológicos.

En efecto: es teniendo en cuenta estos principios, que nosotros al observar aquellas células que han sobrellevado una vida penosa por cualquiera de las causas que puedan influir en su organización, nos revelan tanto en su exámen micrográfico como microquímico, caracteres que referimos á tipos patológicos ó degenerativos.

Ahora, en nuestra célula, tenemos tres tipos morfológicos principales: el esférico, cuadrangular y filamentosos; el esférico pertenece á los medios sólidos; el cuadrangular y el filamentosos á los medios líquidos: del esférico y del cuadrangular ya hemos hablado, y me creo excusado repetirlo, por cuanto además de ser perfectamente inferible, yo lo he explicado en mi anterior Memoria; por tanto ahora hablaré del filamentosos.

Dos causas existen sobre todo, como factores principales de la producción de esta forma, el calor y la falta de oxígeno.

El estudio de la influencia del calor en la vegetación de este hongo, fuera de su acción general indispensable al desarrollo de todos los seres, podemos referirlo á las temperaturas.

Las temperaturas límites necesarias y las compatibles á la vegetación, pueden estimarse

de una manera aproximada entre 5° como mínimo y 40° como máximo; entre estas temperaturas extremas existe una media, digamos así, que parece ser la mas favorable al desenvolvimiento que oscila entre 25° y 30°.

De suerte que al partir de esta temperatura média para arriba ó para abajo, la vegetacion decrece progresivamente; siendo mucho mas intensa la influencia, especialmente en el sentido de las superiores, y á medida que se aproximan al límite máximo. Además en la influencia de las temperaturas en particular, es necesario tener presente que éstas obrarán con mayor ó menor energía, según se hagan obrar en muchos casos brusca ó progresivamente.

Ahora bien: para esta célula vegetal, existen relaciones directas en su morfología y funcionalidad con las temperaturas.

En las temperaturas relativamente bajas de 15° á 20°, aunque la multiplicacion es relativamente lenta, los elementos adquieren un volumen mismo dos veces mayor al volumen de los elementos obtenidos con la temperatura média, ó de intensidad vegetativa y exuberante multiplicacion.

En las temperaturas superiores á la media, ó mismo en ésta, pero cuando el hongo se desarrolla dentro del líquido, ó fuera del contacto del aire, los elementos adquieren formas filamentosas; entónces la vegetacion se presenta bajo la forma de glomérulos radiados, formada por numerosos filamentos, siendo igual esta influencia para otros hongos, con la particularidad de que en aquellos que producen pigmentos, por la accion del oxígeno, éstos no se producen; y que en presencia de él las pigmentaciones que se observan son diferentes, según sea la temperatura.

En estas condiciones de temperatura, superiores á la media, se perciben al exámen microscópico estos delgados filamentos con células endógenas no desenvueltas (esporos), indicando el período premonitorio de la destruccion de las partes esencialmente vejetativas, á cuyo fenómeno llamamos luego esporulacion.

Los elementos vegetativos aéreos, son en estas condiciones pequeños y contraídos ó ratatinados; en los hongos pigmentados, la pigmentacion se hace pálida ó fugáz (*Penicillum*, *Aspergillus* etc.)

En el crecimiento, en forma de filamentos, constituidos por elementos celulares sobrepuestos y semejantes, se multiplican endogenicamente, en la forma mas simple de ésta. Esto mismo ocurre para otros hongos que pueden adquirir modificaciones de estructura que les hacen mas complejos. (*Penicillium Aspergillus* etc), la fructificación de éstos, por tanto, en este caso la podemos llamar indirecta; por cuanto en estas condiciones no se forman los órganos de la fructificación, de los cuales nos servimos para caracterizarlos.

Esta falta de la formación de los órganos característicos de la fructificación, creo que podría explicarse de la siguiente manera:

Viviendo el hongo, en el interior del liquido, el medio es uniforme, ya se tomen sus elementos individualmente, ya sea con relación á las colectividades, de tal modo que existe unidad en el conjunto, y equilibrio en la acción de funcionalidad reciproca.

En la vida aérea, las células que se van originando, por renovamiento incesante, y por prolongación de las que se hallan en contacto á las sustancias nutritivas; á medida que se alejan de éstas al generarse sucesivamente sobrepuestas, y al dirigirse hácia arriba, se van modificando en su desenvolvimiento y estructura por adaptación al medio aéreo y á la vida colectiva; pues en este caso, no todas las células que sobrepuestas constituyen el individuo, se hallan en igualdad de condiciones, pues las que ocupan la parte superior dependen en su nutrición de las que ocupan la inferior que se hallan en contacto con la sustancia nutritiva; y son esas modificaciones de adaptación en la vida de conjunto, en esas condiciones, la causa de la formación de los órganos de fructificación y de la pigmentación, etc. que nos sirven para caracterizarlos.

Temería no ser suficientemente comprendido en esta cuestion, y es posible que de una manera breve la hagamos mas comprensible; vemos, por ejemplo, un *aspergillus*, que en el interior de un liquido se halla constituido, ó bien por filamentos formados por células alargadas iguales y sobrepuestas, ó por células toruláceas reproduciéndose en células semejantes y desprovistas de pigmentación; tomadas estas células y transportadas á la superficie de un medio nutritivo cualquiera, nos producirán igualmente

filamentos de células sobrepuestas, pero en este caso desiguales estas serán de más en mas diferenciadas, á medida que se internen en el aire, y nos producirán entonces las extremidades globosas con sus series de esterigmas y conidias, del mismo modo que la pigmentación.

Las modificaciones de estructura, pues, se explican por la adaptación en el desenvolvimiento en conjunto, obrando diferentes medios, en las partes de este conjunto, y de aquí la exactitud del principio de Mirbel enunciado anteriormente del mismo modo que en la planta semodifican en su estructura y función las partes que se dirigen á la profundidad de la tierra, de las que se dirigen al aire y á la luz.

Y es así que cuando plantamos un ramo indiferentemente por cualquiera de sus extremos, la extremidad sumergida en la tierra nos producirá la raíz, mientras que la que se halle al aire y á la luz nos producirá las partes verdes, etc.

Establecido esto, las diferencias en la pigmentación y esta misma se explican por esta causa y la acción de las temperaturas elevadas sobre ésta, por una disminución en la actividad del desdoblamiento de los leucoproductos, de origen protoplasmático que producen el pigmento bajo la influencia del oxígeno; iguales consideraciones pueden hacerse con relación á la acción de las radiaciones luminosas, sean estas calóricas ó luminosas, sobre las cuales por el momento no me es posible extenderme.

Pero, considero ante todo indispensable que conozcamos la estructura y la multiplicación de la célula para que podamos darnos cuenta exacta de la influencia de la temperatura, tanto en el aumento como en la disminución de volumen de los elementos.

Para ello, podemos tomar una célula joven del oídium; al examinarla, la vemos formada por una sustancia azoada de naturaleza albuminoidea, compuesta por numerosas granulaciones brillantes, y de consistencia plástica; esta sustancia se halla limitada en el espacio, por una ligerísima zona transparente, *superficie de tensión*.

A medida que esta célula se desenvuelve, podemos observar que sobre esta *superficie de tensión*, ó mas bien en toda su superficie, se vá formando sucesivamente una envoltura ó zona hyalina, que es la membrana; ésta no presenta las reacciones de la celulosa propiamente dicha,

pero es á ésta sumamente análoga, es decir, una forma condensada de la misma, y se le ha denominado meta-celulosa ó fungina.

Infiriendo por analogía con la célula de vegetales superiores, ésta se forma por un proceso de intussuccion del protoplasma á la periferia, ya sea de partículas protoplasmáticas modificadas, ó de partículas específicas que se hallan mezcladas al protoplasma.

Una vez formada ésta se nos presenta ligeramente córnea, especialmente cuando la célula vive al contacto del aire, ó en líquidos ácidos; es mas blanda, cuando vive en líquidos alcalinos, y sufre especialmente dos géneros de generacion: la mucoide y la cuticular ó leñosa.

Estas dos degeneraciones son esenciales, á la multiplicacion la una, y á la resistencia natural la otra.

La primera, se observa sobre todo en el proceso de la multiplicacion, y se produce *normalmente* en el envejecimiento celular; la segunda, se origina en circunstancias determinadas de peligro á la vitalidad, como medio natural de defensa ó resistencia.

De las reacciones microquímicas de la membrana hemos hablado; además ésta no absorbe las materias colorantes, y solo lo hace débilmente en los casos de degeneracion incompleta; ésta, desempeña igualmente otros fenómenos biológicos, de los que hablaremos á su debido tiempo.

La sustancia albuminoide ó granular, es la materia viva como la ha denominado el ilustre fisiólogo Claudio Bernard. De su composicion hemos hablado, del mismo modo que de su manera de comportarse con los reactivos microquímicos.

Estas pequeñas granulaciones, serian para Nageli y Sirendener, pequeñas partes sólidas aisladas relativamente inmutables é invisibles, y de estructura cristalina en suspension en el agua.

La organizacion y el crecimiento de estas granulaciones reside, en nuestro concepto, en continuados fenómenos seriados de intussuccion; efectuados por desequilibrios moleculares, entre éstas y el medio, y por reacciones químicas, debidas á un incesante renovamiento de estos elementos; así que las energías propias de los elementos en conflicto, serian puestas en libertad, en el momento de las reacciones químicas, las que serian utilizadas á su vez para la usura y el

renovamiento de la organizacion, ó mas bien dicho, para la síntesis organizatrix.

He aquí pues mas ó menos, lo que constituye la vida manifiesta.

El ilustre fisiólogo Claudio Bernard nos define la vida de estos dos modos.

La vida es la creacion, y en forma paradojal, la vida es la muerte.

M. Le Dantec, en su reciente obra *Nueva teoria de la vida*, considera absolutamente errónea esta última definicion pero la argumentacion que él aduce para demostrarlo es en nuestro concepto inacertada.

Es cierto que la primera de estas definiciones, se contradice visiblemente con la segunda. En efecto si la vida es la creacion, y la vida es la muerte, la muerte es la creacion, en cambio la muerte en realidad nada crea, esta es físicamente hablando la *inercia*; la sustancia muerta es la sustancia inanimada, y se halla desde luego sujeta á las eventualidades de ésta.

Ahora bien: si profundizamos en el pensamiento de ese ilustre fisiólogo, si recorremos sus monumentales obras, hallamos la explicacion de esta última definicion, en que la destruccion es la condicion indispensable de la renovacion, y en que los fenómenos que á ésta acompañan, son los que nos manifiestan la vida.

Es evidente que esta frase contiene una profundidad de concepto inestimable, puesto que ella nos enseña la esencialidad de los fenómenos biológicos; que éstos requieren para producirse la destruccion, y que con las energías aportadas por los elementos en accion, se efectúa la renovacion; pero por otra parte, es ella sin duda alguna una confusion lamentable de causa á efecto, aparentemente inseparable, bien entendido que así lo conceptuamos y lo decimos, sin que ello implique una falta de veneracion á ese ilustre maestro.

Entiendo que la muerte en el rigor de su acepcion, es la inaptitud absoluta á los fenómenos de destruccion y de síntesis de la materia organizada.

Un ejemplo nos puede dar exacta cuenta de cómo puede ser considerada esta cuestion, refiriéndola, por ejemplo, el fenómeno de la *combustion*.

Podemos para ello denominar *ser viviente* á la materia combustible, que en condiciones deter-

minadas en presencia del oxígeno (medio), ocasiona una serie de fenómenos físico-químicos la combustión (vida, *vida manifiesta*), debiendo necesariamente, para que estos fenómenos se realicen, destruirse la materia combustible, poniendo en libertad, sus energías bajo la forma de calor y luz, pasando simultáneamente á materia incombustible (muerta).

El ejemplo es preciso: una materia al combustionarse, se hace incombustible, un ser al vivir manifestamente, se destruye, con la diferencia que á la vez se renueva, porque las energías de la destrucción las utiliza en la reconstrucción; pero el producto de la combustión es ya inapto para producirla nuevamente, mientras que los elementos renovados lo son, y solo ocurre la muerte, cuando estos fenómenos no se producen ni se producirán más.

De suerte que nosotros no definimos la combustión, diciendo que la combustión es la incombustibilidad, aunque sea ésta la consecuencia forzosa de aquélla: es la combustión los fenómenos físico-químicos realizados por la materia combustible en el oxígeno, como son la vida manifiesta los fenómenos físico-químicos realizados por el ser y el medio que dan por resultado la organización.

No obstante, la frase del gran maestro de la fisiología, debe ser respetada, considerada en abstracto, y en la forma figurada que él mismo nos lo expresa en sus obras.

Por tanto, el renovamiento íntimo é individual de la materia viviente, se impone como condición forzosa de la vida manifiesta.

Y en cuanto á las objeciones que hace M. le Dantec á Claudio Bernard, en que la definición expuesta sólo es aplicable á los organismos pluricelulares, pero no para los monocelulares, me ocuparé en breve y trataré de probar que por lo menos en nuestro caso particular, estos no son una excepción á las leyes de la fisiología que rigen á la organización. (Nacimiento, crecimiento, reproducción y muerte).

Luego de lo expuesto, y antes de entrar en este punto me permitiré tentar una definición del ser, la vida (*latente y manifiesta*) la muerte y la individualidad.

Ser: es un conjunto de elementos organizados definidos aptos para producir en un medio también definido, una serie de fenómenos físico-quí-

micos, indispensables al objeto que constituyen.

La *vida* es esa serie de fenómenos físico-químicos realizados por el ser y el medio, que tienden al equilibrio.

Estos fenómenos físico-químicos efectuados por el ser y el medio, cuando se producen en forma de desequilibrios coordinados, dan por resultado la organizacion. (*Vida manifiesta*); en cambio, cuando estos se efectúan de una manera absoluta y rigurosamente compensada, la organizacion permanece estacionaria (*vida latente*) siendo desde luego el *ser* susceptible de producir en determinadas circunstancias los fenómenos de la vida manifiesta.

La *muerte*, es la pérdida absoluta en el *ser*, de la propiedad de producir los fenómenos de la *vida latente y manifiesta*.

Cuando ciertos caracteres perceptibles de ese conjunto de agregados, persisten, con exclusion de la renovacion incesante molecular, constituye la *individualidad*.

Estas digresiones, aparecerán sin duda á primera vista extemporáneas; pero debe de tenerse presente, que son requeridas, por la importancia y trascendencia científico-filosófica de la cuestion á tratar.

Hemos dicho que trataríamos de demostrar que por lo menos la célula por nosotros estudiada, no es una excepcion á las leyes fisiológicas, del renovamiento íntimo é individual, como condicion forzosa de la vida manifiesta, como se pretende que lo son todos los organismos monocelulares, y que esto probaria la exactitud de la siguiente conclusion sobre los fenómenos vitales del ilustre Claudio Bernard.

«Estas leyes son aplicables á cualesquiera que sean las formas que la vida pueda revestir: la complejidad, ó la *simplicidad* de formas.»

Es un hecho indiscutible la limitacion, aunque variable, de la vida individual en el tiempo y en el espacio.

A este propósito, os citaré este breve y profundo concepto de Juan Miller.

Los cuerpos organizados son perecederos, mientras que la vida con una apariencia de inmortalidad, se conserva de un individuo al otro; vale decir, la vida de un individuo es continuada por su descendiente.

La exactitud del concepto que acabamos de transcribir, nos excusa de mayores comentarios,

en lo que se refiere á la perecibilidad por *muerte normal* de los seres superiores ó multicelulares.

Pero esta ley, tan evidente, tan indiscutible, no sería un atributo comun para todos los seres de la naturaleza; pues ella haría una excepción, según las ideas actuales, en lo que se refiere á los monocelulares.

Estos últimos, en efecto, si bien no serian inmortales en el sentido absoluto de la palabra, por cuanto perecen por causas determinadas, lo serian con respecto á la *muerte natural*, á que se hallan sujetos los multicelulares.

En nuestro concepto, es verdaderamente difícil, comprender en principio la existencia de excepciones, en lo que establecemos como leyes de la naturaleza.

Pero por una parte, la divisibilidad de la individualidad de los seres monocelulares, pueda ser filosóficamente discutible, por las dificultades que ofrecen su estudio y observacion, por la existencia de la muerte en ellos, por causas extrañas, al igual de los multicelulares, estando por tanto sujetos á la misma ley á ese respecto; aunque consideremos con Claudio Bernard la necesidad del ranovamiento intimo é individual como causa forzosa de la vida manifiesta, y como principio general á cualesquiera que sea la organizacion simple ó compleja. Pero por otra parte, como la cuestion es árdua y sumamente importante, se requiere para su resolucion extremada prudencia, y nos obliga entero respeto á las opiniones actuales en los casos que no se refieren á la célula por nosotros estudiada.

Habíamos quedado en nuestra exposicion sobre el desenvolvimiento de la célula, en el proceso de formacion de la membrana, estudiando algunas funciones de la misma; hicimos al mismo tiempo, algunas consideraciones acerca del protoplasma, ó sea la parte esencialmente vital.

Continuando pues la observacion, podemos apreciar en la célula, que llegando á un desenvolvimento dado, se va formando en su parte interna, especialmente en el centro una vacuola.

Cuando esta vacuola ha adquirido un tamaño que nos permite precisarle perfectamente, en si y en su contenido, la vemos que contiene un liquido ligeramente amarillento, al mismo tiempo que se perciben en este liquido algunos pequeños granos, sumamente móviles, que al co-

lorear la célula, absorben con extremada fuerza la materia colorante.

Si se continúa la observación, ó se examinan con detención otras células, puede verse que estos granos van aumentando de volumen, y que, no solo llegan á ocupar el espacio de la vacuola, sino que tambien van limitando ó reduciendo cada vez más la zona parietal granulosa, la que termina por desaparecer, quedando entonces una zona clara ligeramente diferenciable de la membrana propiamente dicha.

Como puede comprenderse, estos corpúsculos, al desenvolverse para ocupar toda la cavidad que correspondia á la célula primitiva, adquieren la forma de que son susceptibles, dada la naturaleza plástica de la sustancia que los constituye.

De tal suerte que como la forma de las células varia, la forma de la vacuola tambien, así es que, si los corpúsculos en el primer momento son redondeados, merced á la densidad del líquido que los contiene, al desaparecer éste y ocupar toda la cavidad de la vacuola, adquieren la de la zona parietal envolvente, con arreglo á su número y posición, de tal modo que si, por ejemplo, se trata de una célula esférica y son dos los corpúsculos desenvolviendo al llegar en su desenvolvimiento al contacto de la zona parietal, éstos se redondean mas en toda la superficie de ésta, ó de contacto á ésta, y en razon propia de la plasticidad; en cambio los dos corpúsculos en su punto de contacto se van aplastando por compresión reciproca.

Este ejemplo es referible á cualesquiera que sea el número de corpúsculos, y es perfectamente comprensible en su causa y en su forma; no obstante, volveré á ocuparme de él con mayor detención, por conceptuarlo importante.

Establecido, pues, lo que la observación nos enseña, forzoso es que procuremos interpretarla.

He conceptuado conveniente; para interpretar el fenómeno de la multiplicación de una manera comprensible, establecer ó más bien dividir la célula en sus partes más importantes.

A este propósito, denominaremos plasmógeno á la sustancia fundamental, metaplasma ó funghina á la membrana, plasma ó jugo celular, al líquido contenido en la vacuola; á esta vacuola la denominaremos cavidad germinativa; á la pared que limita la cavidad germinativa del plas-

mógeno, la llamaremos zona prolífica, y á los gránulos que en ésta se originan, corpúsculos embrionarios.

Con estas nociones interpretemos la observacion: hemos visto, que al propio tiempo que la célula va formando por un fenómeno de intususceccion su envoltura exterior ó membrana, sea de partículas protoplasmáticas modificadas, ó de partículas específicas preexistentes y mezcladas al protoplasma ó plasmógeno, por otra parte, una vez que la célula ha adquirido un cierto desenvolvimiento que llamaremos periodo apto para su multiplicacion, se va formando en su interior una vacuola, ó la cavidad germinativa, que se llena simultáneamente de un líquido amarillento, jugo celular ó plasma; en la zona que limita esta cavidad del plasmógeno, se originan bien pronto pequeños corpúsculos sumamente móviles, (corpúsculos embrionarios, que se desarrollan en el interior de la vacuola) motivo por el cual la hemos denominado cavidad germinativa.

Formados estos corpúsculos en la zona prolífica, por un proceso no sabemos cuál conjugacion de moléculas organizadas (?) al desenvolverse en la cavidad germinativa, se nutren á espensas del líquido que hemos denominado plasma, y que la célula madre le proporciona; de tal modo que en esta vida intracelular, á la vez de gozar de una vida en cierto modo autónoma en la cavidad germinativa, disfrutarían no solo de los elementos nutritivos, sino que tambien del calor necesario á su desarrollo y vitalidad, por así proporcionárselos la célula madre.

Este hecho presenta en su forma y principio una analogia absoluta al proceso de incubacion de todos los seres organizados.

Una vez agotado el plasma, en los casos que como el presente, la pared celular es consistente, ya sea por su naturaleza ó ya sea por un principio de coagulacion ó de lignificacion, como ocurre en aquellas circunstancias desfavorables á la vitalidad, en que se produce la esporulacion, la resistencia que esa pared opone, impide que el producto de la concepcion sea expulsado, por el proceso llamado de yemacion, en la forma que lo hemos descripto en nuestra anterior memoria.

De suerte que estas células jóvenes, así endogénicamente producidas, continúan su desenvol-

vimiento en el interior de la célula madre, á expensas de la sustancia organizada de esta, que de una manera indirecta se transforma en sustancia transubstante, ó de reserva, merced á una influencia particular de las nuevas células, las que constituyen á su vez sus respectivas membranas.

Esta sustancia de reserva, sería asimilada por un proceso de contiguidad, de tal modo que una vez agotada quedarían esas células jóvenes envueltas solamente por la membrana de la célula madre.

El proceso ulterior, sería dependiente de las condiciones del medio; en unos casos esta membrana, por desecación etc. se lignifica, y produce entónces un ascósporo leñoso, transparente, dentro del cual se perciben las células jóvenes, sirviendo por tanto de protección á éstas.

Esta membrana así lignificada, por una lijera hidratación, se rompe y deja por lo tanto libres las células; en otros casos la membrana (medios líquidos: y que es lo que podemos llamar proceso normal) en vez de lignificarse sufre una degeneración mucilagínosa que deja igualmente en libertad las células, envueltas durante los primeros momentos, en una ganga ó amas gelatinosa que es como se constituyen las zoogleas.

Estos últimos hechos, presentan igualmente analogía con los del desenvolvimiento del embrión en los vegetales y en los animales; el primero en la semilla germina á expensas del endospermo que va absorbiendo poco á poco, ocurriendo lo mismo con el vitelio en el embrión de los animales.

Esto nos explica á la vez la esporulación, y el por qué cuando una célula se multiplica, en condiciones normales, digámos así, la célula generada tiene la misma forma y los mismos atributos de la que la origina.

Un ejemplo claro, nos lo presentan los saccharomycetes; cuando estos se multiplican en medios líquidos, neutros ó muy lijeramente ácidos, en condiciones de temperatura que faciliten la hidratación de los tejidos, la célula originada, se hidrata igualmente y se distiende con facilidad dentro de la célula madre, siendo por tanto fácilmente expulsada de ella, (yemación), debido á que la membrana se rompe fácilmente. En cambio cuando la turgescencia de los tejidos disminuye, por causas debidas al medio, temperatura, aci-

dez exajerada, etc., la célula originada es retenida.

El mecanismo de la multiplicacion es igual al que presentan en los medios sólidos, siéndolo así en el oidium por la robustez de su membrana; en este caso pues las células endógenas, no pueden hidratarse y se van nutriendo de los elementos de la célula madre, permaneciendo por lo tanto, podemos decir así, *condensadas*; de tal modo que solo quedan libres por ruptura completa, ó por degeneracion de la membrana.

La formacion de estas células condensadas (ó esporos) tiene que ser común á todos estos organismos monocelulares; pues el hecho de que muchos no los producen, no tiene suficiente valor para establecer ena excepcion en organismos de la misma naturaleza, solo que el espora, no signifique mas que una cosa de valor relativo, por su resistencia á los diversos agentes fisicos y químicos, que por cierto es bien diferente, no solo entre los de un mismo microorganismo, sinó que tambien entre los de microorganismos diferentes.

De suerte pues que la esporulacion y la elongacion de las células transformándose en filamentos, por lá accion de temperaturas elevadas de que hemos hablado anteriormente, se explica perfectamente, por un proceso de coagulacion incompleta de la membrana, que dificulta la hidratacion de los tejidos.

El fenómeno inverso, es decir, el aumento considerable de volúmen de las células, que se observa en los líquidos á temperaturas regulares, se explica igualmente por facilitar el estado de la membrana los fenómenos osmóticos, de tal modo que hidratándose los tejidos y haciéndose turgescents, distienden la membrana; y es en estos casos que se producen con facilidad las ramificaciones; puesto que las células endogénicamente producidas empujando lateralmente llevan consigo y retienen la membrana.

Un segundo proceso de multiplicacion ó mas bien de renovamiento, se observa en estas células, sobre todo en aquellos casos en que habiendo aumentado considerablemente de volúmen, la zona plasmogénica se reduce por causas especiales, á constituir una delgada zona parietal; este medio es posible que se halle destinado á asegurar la perpetuacion de la especie.

En circunstancias especiales, y particularmen-

te, en los casos en que las células han adquirido, un gran desenvolvimiento, ocurre que al hacerse impropio el líquido para la vitalidad, por una circunstancia cualquiera, la zona plasmogénica ocupa un ligero espesor, contiguo á la membrana, de tal modo que la cavidad germinativa es entonces sumamente grande y completamente vacía. En estas condiciones la pared prolífica, continúa á producir corpúsculos embrionarios, los que como no pueden germinar dentro de la cavidad germinativa, por hallarse ésta completamente vacía, permanecen inmóviles y acolados á las paredes, hasta que son completamente reabsorbidos, de suerte que por este medio, se va efectuando un proceso de completo renovamiento.

En estos casos se observa tambien muchas veces que por fusion de dos ó más de estos corpúsculos situados en las paredes opuestas, se forma primeramente una esfera que al tocar las paredes, éstas la reabsorben, formándose de este modo un tabique biconvexo de tal manera que viene á dividir en dos la cavidad primitiva; en este tabique continúa tambien el renovamiento, al igual del resto de la cara interna de la zona plasmogénica, de la cual ha venido á formar parte por la fusion; éste renovamiento es igual por tanto en las dos caras cóncavas del tabique; de tal modo que en el intercambio, se forma en ese una linea media, que luego se destruye; observándose entonces una division.

Un proceso bastante análogo á este, ha sido estudiado por Hildebrand, en algunas plantas anuales, las que se hacen vivaces por fenómenos de renovamientos parciales, debidos á la produccion de retoños ó empujes de células jóvenes, que conservan los elementos viejos proporcionándoles vitalidad.

De todo lo expuesto, se desprende, pues, que el *renovamiento íntimo é individual, es la condicion forzosa de la vida manifiesta*, como son tambien en nuestro concepto la *condicion forzosa del crecimiento*, los fenómenos en forma de *desequilibrios coordinados*, como ya lo hemos definido anteriormente.

Conceptuamos, además, que la limitacion de la vida individual en el tiempo y en el espacio tiene por base los principios que acabamos de exponer; y es con arreglo á ellos que ensayaremos su explicacion.

Weismann á este respecto, bien entendido refiriéndose á los organismos pluricelulares, luego de dividir las células de estos en *somáticas* y *germinativas*, y de múltiples y diversas consideracion nos dice:

«El por que de la explicacion de la duracion de la vida, ó del prolongamiento ó acortamiento de esta, debemos hallarle en la seleccion natural; diciéndonos que como toda cualidad corporal se halla sujeta á oscilaciones individuales, otro tanto debe decirse, con respecto á la duracion de la vida; y de aquí que entonces la longevidad para el hombre sea hereditaria, etc.»

Pero si el mecanismo exterior se presenta simple, no es lo mismo para el interior.

Todo esto nos lleva directamente á uno de los problemas más áridos de toda la fisiologia, á la cuestion de saber cuál es la causa de la muerte. Porque solamente, cuando sepamos, por qué razon es necesario que llegue la muerte normal podremos buscar el motivo por el cual se presenta más tarde ó más temprano, y cuales cambios en las propiedades son precisos, para que la vida sea abreviada ó prolongada.

Ha sido en el hombre, donde se ha podido estudiar más exactamente las transformaciones del organismo que conducen á la muerte normal llamada involucion senil.

Sabemos que á medida que la edad avanza, se producen en los tejidos ciertos cambios, que importan un perjuicio al funcionamiento; que estos cambios aumentan gradualmente, concluyendo por producir lo que se llama muerte normal.

Si se pregunta sobre qué puede descansar esta transformacion de los tejidos, solo veo para responder á ésta: que las células que forman la base *viviente* de los tejidos, se gastan por consecuencia de su actividad y de su funcionamiento.

Puédense imaginar dos eventualidades, y admitir, ó que las células de los tejidos son siempre las mismas durante la vida y que se gastan por su actividad y funcionamiento; ó bien, que ellas se renuevan incesantemente, mientras dura la vida.

La primera de estas hipótesis, en el estado actual de nuestros conocimientos, ya no puede sostenerse; millones de glóbulos rojos son continuamente destruidos en la sangre y reemplazados de nuevo; las secreciones glandulares que se consideran productos de disolucion celular,

del mismo modo que el renovamiento de los otros tejidos, etc.

Yo creo, entre tanto, que se puede desde ahora sostener, y ya hay defensores de esta opinion, que los procesos vitales de los animales superiores, es decir multicelulares, están sujetos á una renovacion de los elementos morfológicos de la mayoría de sus tejidos; pero esta hipótesis nos conduce á no buscar las causas de la muerte en el deterioro de las células aisladas, sino que en una limitacion de su aptitud para la multiplicacion, y á representarnos que la muerte llega porque los tejidos gastados no pueden renovarse al infinito: *porque la aptitud de las células del cuerpo para su multiplicacion no es infinita, sino limitada*.

«Sin embargo, la cuestion de la necesidad de la muerte en general, no aparece sin duda ni mas clara ni mas cierta, colocándose á un punto de vista puramente fisiológico, y esto es simplemente, puesto que en general, nosotros no sabemos el por qué una célula se divide en 10, 100, 1,000 ó 100,000 veces para cesar en seguida de reproducirse».

De nuestra parte, no creemos en la necesidad de considerar la causa de la muerte normal, en una facultad limitada en la reproduccion de la célula facultad prefijada de antemano en el huevo, y hereditaria, ni en la de dividir las células en somáticas y germinativas, como lo formula el sabio rector de la Universidad de Brísgau.

Nuestro concepto sobre la vida manifesta y la latente, nos conduce lógicamente á otra explicacion de la causa de la *muerte normal*; al establecer la organizacion, ó el desenvolvimiento, como la resultante de una usura en favor del ser organizado, en el conflicto de la materia inorganizada y la organizada ó viva; además de darnos cuenta exacta de la renovacion incesante en los elementos.

Establecida en esa forma la cuestion, la *muerte normal es la consecuencia forzosa del desenvolvimiento*.

La causa esencial de esta con sus variantes, reside en las condiciones en que la renovacion se efectúa; es decir, en el medio en que estos elementos ó células se renuevan y desenvuelven.

Debemos ante todo plantear claramente esta cuestion.

En los seres multicelulares, el conflicto vital se efectúa, en un medio externo y en un medio interno; es decir, el conjunto, con relacion al medio externo, y los agregados entre sí ó medio interno.

El medio externo con relacion al conjunto, permanece en normal invariable, en cambio en el conjunto desde su punto inicial á su término el medio interno varía como consecuencia de la usura ú organización de lo que toma del medio externo.

Podemos establecer hipotéticamente para hacer mas comprensible esta cuestion, un trazado gráfico demostrativo; una línea ascendente ligeramente inclinada, nos conduciría desde al momento de la organización del nuevo ser, hasta la pubertad; esta línea se desviaría ligeramente y en dirección horizontal, indicándonos la edad adulta, que luego se desviaría en sentido descendente, indicándonos la edad madura y la involución senil hasta la muerte.

La primera nos representa el desenvolvimiento, como consecuencia de la usura, originada por la marcha adaptante y gradual del conjunto al medio; la segunda nos lleva al periodo máximo de adaptacion del conjunto al medio, en cuyo periodo la usura es diferentemente utilizada; para la función aparecida en la pubertad (la generacion) como consecuencia de los desdoblamientos funcionales y de las modificaciones originadas en el medio interno por la marcha adaptante antes enunciada, y en el vigor del conjunto la tercera nos indica la marcha descendente, como demostrativa del periodo de simple integracion ó de reparo, edad madura, y la última la involucion senil hasta la muerte, demarcando la inadaptacion del conjunto al medio.

La causa de esta marcha, la hemos ya establecido, como la consecuencia de la usura ú organizacion que toma del medio externo, ó sea mas bien, por la incesante evolución adaptante y renovacion de los agregados del conjunto, que van ocasionando igualmente de una manera incesante, modificaciones del medio interno, que se traducen por cambios de configuración y funcionalidad.

Un ejemplo nos ofrece esta cuestion de una manera bastante clara.

Si tomamos una bacteria zimógena y la sembramos en un líquido fermentescible y lo coloca-

mos en condiciones propias, estas células se multiplicarán profusamente, desplegarán activamente sus funciones biológicas, observando por tanto nosotros los fenómenos que llamamos fermentación, á los que podemos referir los fenómenos de la vida.

Examinados los productos de esta fermentación, veremos diferencias notables, no solo en la marcha de su producción, sinó que tambien en su naturaleza—lo que nos denota de una manera evidente incesantes modificaciones biológicas en las células fermentantes.

Al cabo de algunos dias, los fenómenos de la fermentación van disminuyendo progresivamente, hasta detenerse completamente.

Dejemos de lado las modificaciones que observamos en la configuración de las células, y encaremos la cuestión en su verdadera faz.

Al ver terminada la fermentación (existiendo sustancia fermentescible), podríamos decir que la vida del fermento ha terminado, por cuanto no nos la manifiesta mas, y nos afirmariamos en esa creencia, si no supiéramos que transportando las células de ese líquido á otros nuevos, nos producen de nuevo la fermentación, etc. Sin embargo, la cesación de la fermentación ó sea la de las manifestaciones de los fenómenos vitales, no reside ni en una limitación de la multiplicación de antemano prefijada, ni en un desgaste de la sustancia organizada, sinó que reside en la inadaptación.

Este ejemplo igualmente en el terreno de las hipótesis, nos conduciría aún mas allá, pues nos establecería que la eternidad de la vida en los individuos que se suceden es debida al cambio de medio que se opera en la generación, etc., del mismo modo que por el trasplante de un trozo de un vegetal, obtenemos una nueva planta de la misma duración de la planta de que procede.

De suerte que de lo expuesto, resulta que la *muerte normal* se produce por una inadaptación del conjunto al medio, consecutiva á la vida manifiesta ó crecimiento.

Ahora bien. La muerte puede producirse tambien por falta de *coordinación* entre las funciones de los agregados del conjunto, ó mas bien por inadaptación de estos entre sí, sin que sea por tanto necesario que hayan recorrido todo el pro-

ceso que nos conduce á la muerte *normal*, y es á lo que llamamos muerte *patológica*.

Y en cuanto á la variabilidad individual, entre seres de una misma especie, longevidad y abreviación ó vejez prematura, etc., reside dejando de lado las condiciones congénitas ó hereditarias, de las condiciones de lo que entendemos por medio externo, en que el sujeto se ha hallado.

Si no fueran suficientes para explicar esto, lo que nos demuestra la influencia que ejerce bajo este punto de vista lo que llamamos *método de vida* con relacion á los animales, bastaríanos recordar la clásica experiencia de Jussieu, con respecto á los vegetales, sobre la germinación y vegetación abreviada ó precóz que se obtiene haciendo germinar las semillas en el agua de cloro, las que nos producen con extremada rapidez una pequeña planta; otros muchos ejemplos y consideraciones hemos enunciado, que le son referentes á esta cuestion; podríamos igualmente aducir otros ejemplos y consideraciones, pero lo conceptuamos por el momento innecesario, además que nos demandaría demasiada extension.

Réstanos ahora tratar otras importantes cuestiones complementarias de las ya tratadas.

Hemos hablado en la primera parte del presente estudio de fenómenos de adaptacion, hijos de las condiciones de existencia traducibles, en cambios de forma y de funcion biológica de que son susceptibles los seres organizados, y especialmente los que constituyen el sujeto de nuestro estudio; cambios de forma y de funcion biológica hemos dicho, que pueden hacerse durables y trasmisibles, siendo estos el fundamento esencial de la evolucion de los seres en el tiempo y en el espacio.

Muchos de estos fenómenos los hemos estudiado, en esta segunda parte; al mismo tiempo que las cuestiones relativas á los conceptos fundamentales de la vida y de la muerte, del renovamiento íntimo ó individual de todos los seres desde los más simples á los más complejos, como condicion forzosa de ambas; procurando siempre la interpretacion de los hechos, sin apartarnos de la experiencia, basándonos en la observacion científica y racionalmente conducida, y en hechos completamente demostrables; siguiendo paso á paso el tránsito de los

séres monocelulares, desde su origen hasta su muerte, y construyendo ese edificio con las múltiples consideraciones que las distintas fases de ese vertiginoso tránsito nos sugieren.

Desde luego es perfectamente comprensible, la extrema dificultad que existe para dislocar estas cuestiones; son tan estrechos los vínculos que las unen, se halla de tal modo entrelazado el mecanismo de ellas, que no es posible tratar las unas sin hacer referencia de las otras; por eso dije que los puntos de que nos vamos á ocupar, son complementarios de los ya tratados, y es efectivamente así del único medio que podremos llegar á explicar, aunque sea de una manera breve y un tanto superficial, el objeto de nuestro estudio, ó sea el origen de las bacterias, como derivadas de una simplificación, ó evolución *regresiva* de hongos mas elevados, y su variabilidad morfológica y funcional.

La cuestion mas fundamental de mi anterior memoria, era la demostracion de la existencia de dos modos diferentes de desenvolvimiento de un mismo microorganismo, resultándonos de ello un bacilo zimógeno y un saccaromyces.

Yo procuré en esa explicar las causas de esas diferencias que no obstante evidencian un fondo comun, la forma especialmente por las condiciones físicas del medio, etc., estableciendo al mismo tiempo la identidad absoluta entre la yemacion y la biparticion, existiendo solamente una diferencia aparente en ambas, causada por la forma, como lo hemos dicho igualmente en la presente memoria; y en cuanto á la de las funciones biológicas, como consecuencia de modificaciones en los fenómenos vitales ó de estructura originadas por aquéllas; como nos lo demuestra en cierto modo lo indiferente que se manifiesta la constitucion química de la sustancia fermentescible; es decir, el hecho de que dos sustancias de composicion química diferentes dan lugar casi á los mismos productos en presencia de un mismo microorganismo.

Establecía al mismo tiempo que estas formas al reproducirse normalmente, originan células de la misma forma y funcion, por cuyo motivo no representa ninguna de ambas una fase de un ciclo morfológico de desenvolvimiento.

Pero he aquí, que en este proceso de multiplicacion, reproduciéndose en elementos idénticos al que le origina, en su forma y en su funcion,

que nos hallamos ante una importante cuestion; ¿puede esta en efecto ser referida á la *herencia*?

Es evidente que el punto es complejo y abarca múltiples cuestiones, sobre las cuales por el momento no nos es posible entrar, ya sea en lo que se refiere á la reproducci3n sexual, y la selecci3n natural, 3 ya sea respecto á las ideas emitidas sobre el desenvolvimiento ontogénico y filético, transmisi3n de caracteres adquiridos etc..etc., con arreglo á las doctrinas de Lamarck, del idioplasma de Nageli, epigénesis de Wolff, perigénesis de Haeckel. pangénesis de Darwin, de la continuidad del plasma germinativo de Weismann 3 los principios sobre la herencia de Broosks, etc.

Parecerán sin duda por lo pronto irreferibles éstas 3 inoportunas, porque tratamos de seres simples, pero debe tenerse en cuenta, que la complejidad de los seres es relativa como ya lo hemos establecido, y que los seres más complejos, no son más que colectividades de simples.

Los fenómenos de adaptaci3n de los seres, se manifiestan, por pérdida 3 adquisici3n de caracteres dependientes de su propia naturaleza, y como ya lo hemos expre-ado.

La primera cuestion que se conceptúa primordial de este importantísimo problema, es, de, si los caracteres adquiridos, son realmente transmisibles, 3 no lo son, y la segunda, dado el caso de que esto se demuestre afirmativamente, cuales pueden ser las causas de esa transmisi3n.

Estos son los puntos importantes de la herencia, sobre los cuales tanto se ha escrito y debatido.

La resoluci3n del primero de estos puntos, nos la puede proporcionar la experimentaci3n; en cuanto al segundo, solo es inferible hipotéticamente de esta.

Aunque son numerosas las experiencias efectuadas y citadas en apoyo de la herencia, 3 mas bien, de la transmisi3n de los caracteres adquiridos, no todos los autores las aceptan como probatorias, conceptuando que ellas pueden ser interpretadas de diversa manera, sin demostrar por tanto la transmisi3n, His, Du Bois, Reymond y Pflueger.

Entre estos últimos debemos contar en primera linea á M. Weismann, por ser quien se ha ocupado muchas veces sobre este punto.

Weismann al exponer su doctrina, sobre la continuidad del plasma germinativo, nos dice, al pretender negar la trasmision de los caracteres adquiridos, lo siguiente:

«Tambien yo he colocado este punto de una manera particular, en mi primer Memoria sobre la herencia, y yo creo haber demostrado por lo menos, que la trasmision generalmente admitida hasta el presente de los caracteres adquiridos, no está de ninguna manera probada, y que á grandes clases de hechos á los cuales se les ha dado esta significacion, pueden y mismo deben en muchos casos ser interpretados de otro modo.»

Múltiples son las consideraciones que el sabio rector de la Universidad de Brisgau aduce al sostener esa manera de ver; tratando siempre de explicar los hechos, con arreglo á la doctrina sobre la continuidad del plasma germinativo; pero puede observarse, que al contestar las objeciones de Roth, basadas en los hechos que la patologia ofrece con frecuencia de que enfermedades adquiridas, son trasmitidas bajo la forma de predisposicion, ese autor establece una lamentable confusion entre la aptitud y la predisposicion, sin dejar de aceptar, no obstante, la existencia de predisposicion propiamente dicha.

Desde luego faltaria saber si esa *predisposicion* de que nos habla M. Weissman, era inherente á los seres primitivos de quienes los que la poseen derivan, ó si ella ha sido adquirida, aunque sea paulatinamente, puesto, que si es lo segundo, la herencia existe de cualquier manera. Pero es necesario ante todo, para que la cuestion sea clara, precisar los términos y su valor.

Entiendo primeramente por predisposicion, una gradacion mas acentuada, en la susceptibilidad propia ó inherente á la naturaleza de un ser, á la pérdida ó adquisicion de un carácter.

Conceptúo pues igualmente con arreglo á este criterio, la existencia de dos clases de predisposicion, bien entendido de valor puramente convencional, puesto que solo demarcan diversas gradaciones de una misma ó sea:

1.º Aptitud, propia de la materia organizada, inherente á su sensibilidad, como consecuencia de la lucha orgánica, (aptitud normal, comun á todo ser organizado.)

2.º Predisposicion, adquirida por desgaste, ó por usura orgánica, (predisposicion patológica.)

3.º Predisposicion heredada (predisposicion patológica.)

De tal modo que debemos conceptuar y conforme mismo á la manera de ver de M. Weismann, como *caracteres adquiridos* á ciertas y determinadas variaciones que provocan las influencias exteriores en la organizacion, ya sean locales ó generales, y de que solo son susceptibles los seres aptos y mas aún los predispuestos.

De suerte que la misma predisposicion, dada la forma en que ha sido considerada, es un carácter adquirido; puesto que se adquiere, y que es la consecuencia de influencias determinadas que interesando la organizacion acentúan su disposicion hacia tal ó cual causa.

Es evidente que estas cuestiones deberian de ser tratadas mas á fondo, discutiendo las diversas teorías emitidas, pero no obstante, y dándolas por conocidas, yo formularé la cuestion de la manera mas breve posible, y con arreglo al objeto que me he propuesto, por ser una de las bases de la evolucion.

Desde luego, es necesario hacer distingos en la cuestion de la trasmision de caracteres adquiridos, puesto que los hechos parecen mas bien demostrar que son solo trasmisibles aquellos que corresponden á modificaciones de la organizacion que aunque producidas por causas locales interesen al conjunto en ese sentido.

Estas breves y en extremo deficientes consideraciones sobre un problema tan complejo é importante, solo las hacemos con el objeto de demostrar que partiendo de esas bases, y refiriéndolas á los elementos unicelulares la trasmision de los caracteres adquiridos, es perfectamente demostrable.

La adquisicion de determinada forma, por determinado microorganismo en determinado medio, es un carácter adquirido, inherente á su naturaleza ó aptitud de comportarse de ese modo en esas condiciones; la reproduccion de ese microorganismo originando microorganismos iguales á él, tanto en forma como en funcion, es la trasmision á los microorganismos por él originados de la forma y de la funcion que merced á su naturaleza, ha adquirido en las condiciones de su desenvolvimiento; cuando ese microorganismo en determinadas circunstancias adquiere otra forma y se modifica en su funcion

es otro carácter adquirido diferente al anterior, pero inherente á su *naturaleza*.

Otro ejemplo nos lo ofrece la virulencia y la pigmentación, éstas son propiedades en general transitorias de ciertos microorganismos, y son caracteres adquiridos, por cuanto la pierden ó la adquieren merced á circunstancias determinadas, y así lo hacen porque de ello son *susceptibles*.

Sobre la adquisición primera, nos basta recordar el procedimiento clásico de Pasteur, para el retorno ó intensificación de la virulencia y de los otros que con ese fin se emplean constantemente; Bouchard, Courmont, Reyer etc.

En efecto, conseguido el retorno ó intensificación de la virulencia de determinado microorganismo, nos basta luego uno solo, para obtener de él numerosas generaciones, que nos representan cantidades fabulosas de microorganismos igualmente virulentos.

Pero podrá objetarse, que en estos casos la cuestión no es aplicable al problema general de la herencia, por tratarse de seres monocelulares, en los cuales se conceptúa su multiplicación, como un simple fenómeno de división.

Objeción semejante, sería fácilmente refutable, por cuanto aún aceptada la multiplicación por división de la sustancia organizada en dos ó más partes iguales, preciso es tener en cuenta, cuál es el fundamento del proceso de formación de la sustancia *asimilada* ú organizada nueva, producto de la renovación, y de la multiplicación de las moléculas organizadas; es decir, dado es perfectamente suponer que una célula por simple que sea, no está formada toda de una sola pieza, sino que por agregados invisibles sí, pero perfectamente organizados y posiblemente simétricos.

Yo he formulado anteriormente el mecanismo, tanto el del crecimiento como el de la multiplicación de estas moléculas organizadas; de suerte que si ellas son las que se multiplican, lo hacen originando moléculas iguales á sí, como lo hace el ser monocelular, ó como lo hace el pluricelular.

Y es en esto que quizá resida la *asimilación*, ese misterioso proceso sintético que realiza la materia organizada al convertir sustancias de composición química en extremo diferentes, en sustancias absolutamente iguales á su propia naturaleza ó más bien identificándola á sí misma.

Es posible igualmente, que tanto la esencia de la herencia, como la de la funcionalidad, dependen de la estructura de esas moléculas organizadas, ó agregados, estructura susceptible de modificarse en determinadas circunstancias.

Para el primero de estos casos podemos suponer hipotéticamente en la célula, ésta desde luego siempre compleja, dos eventualidades ó relatividades, con respecto á la estructura heterogénea de las partes específicas que la forman.

Así por ejemplo, ya sea la célula fecundada ó formada por la conjugacion de dos células perceptibles y diferenciables macho y hembra, susceptibles de desdoblarse luego en colectividades de células en extremo diferenciadas, con las diferencias biológicas correlativas, ó ya se trate de la célula considerada simple, susceptible tan solo de producir colectividades de células á la percepcion idénticas.

En cualquiera de ellas su organizacion, aunque difícilmente apreciable, pueden suponerse, formadas las primeras por moléculas y átomos heteromorfos, mientras que las segundas lo serian por moléculas relativamente homonomorfas, formadas por átomos heteromorfos.

Las primeras podrian, por ejemplo, referirse á los compuestos orgánicos complejos, constituidos por radicales distintos, y las segundas, á las sales minerales simples.

En efecto: si nosotros tomamos un cristal de cloruro de sodio, cualesquiera que sea su tamaño, y le examinamos en su forma, le veremos formado por seis caras paralelamente dispuestas para formar un cubo; si al propio tiempo disgregamos este cristal en partículas más pequeñas, veremos que estas igualmente poseen la misma forma del cristal grande de que formaban parte; pero si nosotros le examinamos en su composicion química, le veremos formado por cloro y sodio excepcion hecha del agua intermolecular, cuyos pesos atómicos son diferentes.—35.5, y=23—.

Así podemos representar la organizacion de la célula que llamamos simple, los átomos (1) que constituyen las moléculas organizadas ó celulares, serian heteromorfos, y las moléculas ho-

(1) Estas denominaciones, las hemos empleado en un sentido puramente convencional ó figurado.

monomorfos, de suerte que esta célula sería formada por agregados relativamente iguales, los que al multiplicarse, ó más bien al *asimilar* la sustancia inorganizada, originarian tan solo agregados relativamente idénticos entre sí, ú homomorfos, y de aquí que al formar otras células estas serían semejantes á la primitiva.

En cambio, la célula germinativa, ó compleja formada igualmente por moléculas organizadas como la anterior, pero con la diferencia que estas moléculas en vez de ser iguales entre sí como lo son en la anterior, serían diferentes ó heteromorfas, de tal modo que al multiplicarse, ó al efectuar estas moléculas la *asimilacion*, autónomamente, pero coordinadas entre sí, originarian moléculas respectivamente semejantes, y por tanto, iría desdoblando seriadamente sus especificidades organizadas, es decir, produciendo colectividades de células diferenciadas, etc.

Reasumiendo lo expuesto, podemos decir, que posiblemente es un mismo principio el que preside á la multiplicacion normal de los seres, que al originar individuos semejantes á los progenitores le llamamos *herencia*, y á la multiplicacion de las moléculas celulares que llamamos *asimilacion*.

Es conformemente á este criterio, y al generalmente admitido, suponiendo á estas moléculas una estructura determinada, cuya funcionalidad específica digamos así dependería de su organizacion química, ó sea de la disposicion ó agrupacion de sus átomos.

Comprendidas de este modo la especificidad funcional, las modificaciones ó cambios que en algunos casos acompaña á los cambios de forma, sería perfectamente explicable, no ya por una modificacion en la composicion química de la molécula, sino que por estados diversos de agregacion y de desdoblamiento molecular, por modificaciones en la estructura, ú organizacion química, debido á diferencias en la agrupacion de los átomos, referibles á los fenómenos de alotropismo de los metaloides, ó de isomeria en los compuestos orgánicos.

Concebidos de este modo los agregados organizados de un sér, homomorfos ó heteromorfos, formando un sér simple ó un sér complejo, de la funcionalidad autónoma, de éstos fluye fácilmente, la nocion que hemos establecido en otro lugar de los desequilibrios coordinados, al

fin determinado del conjunto; es éste el fundamento de la division del trabajo en todo sér complejo, y la base de la persistencia mayor de la individualidad del sér mas complejo.

A fin de ser breve, dejaré de lado por el momento, numerosas consideraciones importantes sobre esta cuestion, con el propósito de tratarlas con mayor extension en otra ocasion; por esta razon haré otro tanto, sobre el punto que ahora trataremos, ó sea la *regresion* en la forma mas abreviadamente posible.

Hemos dicho en otro lugar que los fenómenos de adaptacion de los seres se manifiestan por pérdida ó adquisicion de caracteres dependientes de su propia naturaleza; y es así, que del mismo modo que en la organizacion, mediante la creacion de partes nuevas, ó por perfeccionamiento de las existentes, llega ésta á realizar sus funciones de la manera que le es mas útil; por un fenómeno inverso de simplificacion, se suprime ó elimina todo aquello que le es supérfluo, á fin de que los elementos activos puedan funcionar libremente.

Pasaré por alto por ahora los comentarios y ejemplos que nos proporcionan los vegetales y los animales, sobre estos fenómenos de regresion en la naturaleza; puesto que no nos es posible consagrarles la atencion y el detenimiento que requeririan, nos concretaremos pues á interpretar los resultados que hemos obtenido en nuestras experiencias, es decir, la causa ó proceso de simplificacion de los hongos mas elevados al producirnos las bacterias.

Como podrá recordarse, las experiencias expuestas nos demuestran que la simplificacion del oidium es ocasionada por una influencia especial que ejerce la caseína, sobre la constitucion del hongo, y particularmente sobre su membrana metacelulósica.

En la investigacion de la causa de esta influencia, solo nos es dado hallar su explicacion, en la naturaleza ó constitucion quimica de las partes accionantes, el elemento organizado, y la sustancia que sobre él reacciona.

En efecto, hemos establecido en otro lugar, algunas de las propiedades, funciones y modificaciones de la membrana, modificaciones que en ésta se efectúan merced á las condiciones ó composicion del medio.

Evidenciado por las experiencias que con ese

objeto emprendimos, que los resultados obtenidos se debían á esa influencia de la caseína, se podrá recordar al mismo tiempo que en esas experiencias, pudimos apreciar, que la disolución de esa sustancia por el hongo en los líquidos, se efectúa simultáneamente á un reblandecimiento, y mismo disolución de la membranas, que no se hallaban lignificadas.

Es eso lo que á nuestro modo de ver, nos demuestra la formación de los sacos protoplasma-ticos parietales en los tubos reblandecidos, la desintegración de los tubos lignificados, en los que se observan, corpúsculos protoplasmáticos extremadamente móviles, la formación de la ganga mucilaginosa de la superficie del líquido y la consistencia viscosa que éste adquiere.

De aquí pues que conceptuamos que la influencia de la caseína origine un profundo proceso de degeneración mucilaginosa de la membrana; degeneración, que está ligada á la simultánea disolución ó peptonización de la caseína; pudiendo variar, como se comprende, la intensidad del fenómeno en determinadas circunstancias, y es lo que nos explica, los diferentes resultados que hemos obtenido, con el líquido caseínico simple y con el lactosado ó leche.

En efecto: del mismo modo que un mismo hongo, según sea más ó menos nutrido, nos manifiesta diferencias en la forma y en la función, en las modificaciones que la adaptación imprime, siempre que ésta se realiza; es decir, cuando el organismo no perece, existen gradaciones, que á esos estados corresponden.

Es en esto pues que hallamos la razón de la diferencia obtenida, con el líquido caseinificado simple, y con el azucarado; en ambos es un proceso de desintegración orgánica que provoca la caseína, sobre determinadas partes vivas de la célula, y es merced á ese proceso de desintegración, que la caseína es disuelta ó peptonizada; en efecto, en el primero de los casos, si bien la influencia de la caseína es intensa, como en estas circunstancias el hongo puede considerarse poco nutrido, la simplificación es incompleta, obteniendo por tanto una forma intermedia, ó de transición, en cierto modo, fungóide y plasmogénica, referible á las streptotriceas.

En el segundo caso la desintegración operada por la caseína para su peptonización, es ejercida simultáneamente á la del azúcar, ésta es enton-

ces más profunda y por tanto la forma obtenida es casi exclusivamente protoplasmática ó plasmogénica.

Conceptuada, pues, la simplificación de este hongo como consecutiva á un profundo proceso de degeneración mucilagínosa de la membrana propiamente dicha, metacelulósica que origina su desaparición en las generaciones siguientes adaptadas, es importante inferir si es posible, por la diferencia funcional manifestada antes y despues de la pérdida de la membrana por el proceso indicado, la significación biológica de esa membrana.

Es en este mismo proceso de degeneración de la membrana en la forma expuesta, que reside la causa de la derivación filogenética de las formas y de que hemos hablado en la primera parte.

En efecto, en esa hemos enunciado las opiniones de Kruse á ese respecto, que considera que los cocos y los streptococcos derivan de los bacilos; esta derivación es exacta, y se comprende perfectamente por degeneración de restos de la membrana pseudometacelulósica que acompaña algunas de esas formas y á las streptotriceas, además de observarse experimentalmente con extremada frecuencia.

Fuera del rol que ésta desempeña, con respecto á multiplicacion y á la resistencia, etc., de que ya hemos hablado, un hecho parece manifestarnos claramente su verdadera significacion biológica, y que á nuestro modo de ver, vendria á confirmar el concepto de M. Gautier, con respecto á los fenómenos que tienen lugar en la periferia celular.

En efecto: al exponer nuestras experiencias; y al hablar de los medios nutritivos aptos para el cultivo de este hongo, y de las formas bactericas de su simplificación, hemos dicho que todos ellos se desarrollan fácilmente en los líquidos azucarados, etc., pero que mientras que en los cultivos del primero, en estos líquidos, la reaccion permanece casi invariable, en los de los segundos, se produce ácido láctico, que luego detiene el desarrollo y que en cambio los medios mas aptos para el desarrollo del hongo, son los líquidos que contienen ese ácido, á expensas del cual puede vivir perfectamente.

En una palabra, el hongo completo formado por el plasmógeno y la membrana meta-celuló-

sica, vive indiferentemente en las soluciones azucaradas, y en las de ácido láctico, mientras que luego de su simplificación, no puede vivir en los segundos, y vive en los primeros transformando las sustancias azucaradas en ese ácido.

De este hecho se desprende entonces que la simplificación de la forma, va acompañada de una simplificación en la función, que consiste en este caso, en la pérdida de la propiedad de combustionar el ácido láctico, propiedad esencialmente específica de la membrana metacelulósica, permitiéndonos al mismo tiempo concebir el mecanismo biológico de la célula.

M. Gautier, asigna en la célula nucleada, al protoplasma y al núcleo, las funciones primordiales de la vida, las que se efectúan en una forma esencialmente anaerobia, y á la membrana ó periferia, en condiciones por decir así esencialmente aerobias, le corresponderían los fenómenos de oxidación ó combustion de los productos celulares, con los que aporta la mayor parte del calor y de las energías necesarias al conjunto.

A nuestro modo de ver, es mas ó menos este el mecanismo biológico de las células del oidium; la sustancia plasmogénica, esencialmente vital, ó contenido celular, tendría por misión capital, los fenómenos esenciales de la nutrición, fenómenos particularmente de hidratación, de reducción y de difusión de los materiales absorbidos, y la multiplicación. A la membrana le correspondería no solo su función de aparato de sosten y de protección, sino que tambien la absorción, los fenómenos respiratorios, ó de combustion de los materiales asimilados y de excreción ó fenómenos de oxidación, que le aportarían al conjunto la mayor suma de las energías necesarias, y consecutivamente la locomoción.

En efecto, esta funcionalidad se infiere perfectamente caracterizada de los hechos expuestos, pues de ellos se desprende que en el hongo completo, á la par que las sustancias azucaradas son transformadas por el plasmógeno en ácido láctico, éste es combustionado por la membrana metacelulósica, mientras que en el hongo simplificado que carece de ésta el ácido originado solo es combustionado en mínima parte, acumulándose por tanto en el líquido.

Ahora bien: es en extremo probable que los movimientos de la célula, sean la resultante, de los desequilibrios físicos ocasionados por las

reacciones químicas, particularmente por las efectuadas en su superficie en la forma expuesta, aparte de los otros desequilibrios que originan los fenómenos mecánicos ú osmóticos.

Este concepto, desde luego, no excluye el rol que en este movimiento desempeñan los cirros vibrátiles; puesto que siendo estos como lo piensa Van Tieghem, meros prolongamientos protoplasmáticos, los fenómenos se efectuarán en ellos en la misma forma que en la superficie de la célula, y por tanto contribuirán enormemente al movimiento.

Los fenómenos llamados quimiotrópicos ó quimiotáxicos, podrian igualmente explicarse por ese mecanismo, sin que sean necesarias como causa en esas condiciones especiales, razones de afinidad; así parece pensarlo Van Tieghem, con respecto á la atraccion de los organismos reproductores de ciertas criptógamas, al nadar en un mismo líquido, para luego formar la zigóspora; como ocurre con el *Spirogira Heriana*, etc., pudiéndose decir igual cosa para los fenómenos fototácticos, tan frecuentes en las algas.

En efecto: el mecanismo general del movimiento celular, puede concebirse fácilmente, como análogo al que produce el sódio ó el alcanfor al sumergirle en el agua, el desprendimiento de hidrógeno consecutivo á la oxidacion del sódio por descomposicion del agua, y los fenómenos termicos en esa originados imprimen á esa sustancia un vivo movimiento. que en la célula por idéntico mecanismo se concibe fácilmente.

En los fenómenos quimiotaxicos y en los fototácticos, la causa dependeria posiblemente, de la orientacion ejercida por una influencia unilateral, ocasionando un desenvolvimiento mayor en ese lado que en el opuesto; así por ejemplo, la influencia unilateral ejercida por radiaciones luminosas en ciertas algas conjugadas *Closterium*, *Pleurotænium*, etc, que las obliga á aproximarse al foco luminoso; los fenómenos de atraccion y los repulsivos por causas químicas que se observan en el *cethalium septicum* y otros plasmodios en las soluciones de glucosa, etc., son perfectamente explicables por esa causa: un ejemplo de esa influencia unilateral, nos lo presenta la repulsion que se opera al colocar una

gota de agua y otra de alcohol en un vidrio de reloj.

Ahora bien: la intensidad de los movimientos puede variar por distintas causas, que es importante tenerlas en cuenta.

En el sentido de la lentitud de los movimientos influye primero la longitud, la forma de la célula, y la constitucion de su membrana, es decir, si esta es mas ó menos rígida, ó si se halla envuelta en sustancia glutinosa amas ó ganga mucilaginosa.

Otro tanto ocurre, y el movimiento es completamente anulado, cuando una degeneracion profunda, provoca el reblandecimiento y deformacion de las células, como ocurre en la aglutinacion (fenómeno Gruber Widal, ect) producida por sustancias de naturaleza fagocitaria ó por sustancias minerales, bicloruro de mercurio etc.

Las primeras de estas causas influyen, por una suerte de compensacion entre los desequilibrados enunciados, que determinan el movimiento, mientras que en los otros casos, fuera de aquellos en que existen cirros vibrátiles que obran en la forma que hemos indicado, es la pequeña longitud, y la flexibilidad de la membrana, la que desempeña el rol preponderante.

En efecto: cuando la membrana es flexible puede suponerse perfectamente que los desequilibrios ocasionados por los fenómenos químicos, provoquen contracciones seriadas en su superficie y por tanto éstas aceleren el movimiento.

Yo citaré como ejemplo de este mecanismo, el que nos presenta el movimiento de contractilidad de las mimosas, sensitiva y púdica, los oxilis, etc., que Pfeffer, Sachs y Cohn nos explican por fenómenos progresivos de hidratacion y deshidratacion del parénquima, que se alarga ó acorta, por la accion de las radiaciones luminosas, temperatura, estado higrométrico de la atmósfera, etc.

Otro ejemplo claro, nos lo presenta la formacion del hidruro de paladio, por el hidrógeno naciente, cuando lo hacemos accionar sobre una delgada lámina de ese metal, en que puede observarse que al mismo tiempo que el hidrógeno se combina al paladio, la lámina se contrae ó enrolla en forma de espiral; pero de una manera aún mas evidente, apreciamos diariamente en los laboratorios, un ejemplo del movimiento y de la contractilidad, que los fenómenos enuncia-

dos originan, cuando sumergimos en el agua, delgadísimos cortes histológicos deshidratados.

En efecto: al pasar los cortes del alcohol absoluto al agua, éstos adquieren un intenso movimiento, al mismo tiempo que el corte se enrolla completamente; este vivo movimiento y la contracción, es debido solamente á la hidratación del tejido, y á la elevación de temperatura que origina el alcohol al hidratarse

Aunque de una manera breve, nos resta aun estudiar algunas cuestiones que se relacionan con los fenómenos biológicos de la célula en general, y de la membrana en particular.

Hemos dicho, que la derivación filogenética de las bacterias, conformemente á la hipótesis de Brefeld, como resultantes de una simplificación de hongos mas elevados, se producía, merced á una profunda degeneración de la membrana metacelulósica, ocasionada por la caseína.

Pues bien: nos queda ahora tratar de inquirir la causa esencial de ese fenómeno y su significación.

Al hablar del mecanismo biológico de la multiplicación, hablé del rol que desempeña en ésta la membrana de la célula madre, y de los procesos de que es susceptible en determinadas circunstancias, lignificación y degeneración mucilaginosa, y de la que éstas representan, como medio de defensa la primera, y que es merced á la segunda que quedan en libertad las células jóvenes, constituyendo el producto de esa degeneración la ganga mucilaginosa que envuelve á las bacterias, la que al difundirse ligeramente nos forma masas ó amas, ó que cuando es parcialmente retenida la observamos en forma de una zona clara envolvente que denominamos cápsula.

Ahora bien: una considerable diferencia existe en la intensidad del fenómeno producido por la caseína en la simplificación del hongo, y el que se origina, puede decirse normalmente en la multiplicación, y es aquí pues la causa de la influencia especial de la caseína, lo que debemos tratar de estudiar.

Hemos dicho, que correlativamente á la degeneración mucilaginosa de la membrana metacelulósica, la caseína, era disuelta ó peptonizada; y por lo tanto es forzosa la intervención de una diástasa.

Hé aquí, que veo en este fenómeno, la confirmación clara y precisa del concepto que en mi anterior memoria he avanzado sobre las diástasas.

En efecto: en esa, como deducción de los resultados obtenidos en determinadas experiencias, concluía, que las diástasas podrían considerarse como productos de desintegración celular, ó protoplasmática, originada por ciertas sustancias, y en determinadas circunstancias.

Este punto, es en nuestro concepto importantísimo; por tanto, será conveniente el que tratemos de precisarle en forma concreta.

La diferencia que existe entre los dos procesos, es la siguiente: en el primer caso es la degeneración y la disolución de la sustancia organizada que ya ha recorrido su ciclo vital, en la forma que lo hemos expuesto, y es por tanto la degeneración preliminar á la disolución de la sustancia muerta, y son estos productos de origen celular, conjuntamente con los de excreción ó correspondientes á los fenómenos de combustión, que al disolverse en el líquido cuando se trata de bacterias patógenas, constituyen las toxinas; la producción de estas es pues consecutiva á la *vida manifiesta*.

De aquí, pues, que conceptúo que las toxinas microbianas no sean más que sustancias de naturaleza albuminoide producidas por oxidación incompleta del protoplasma, ó sea protoplasma muerto que ha sufrido una modificación que le hace soluble; y es algo análogo lo que se realiza con la digestión de los microbios muertos en soluciones alcalinas glicerinadas, como se procede para la preparación de muchas toxinas.

En el segundo caso, es un proceso especial de degeneración y de desintegración celular, provocado por determinadas sustancias, cuyos productos de desintegración celular, al igual de las secreciones glandulares, son en nuestro concepto partículas proto-plasmáticas, verdaderas moléculas organizadas (diástasas virus) que nos representan problemamente, no ya el límite absoluto de la organización, por cuanto á nuestro modo de ver ese no existe, sino que mas bien, el punto de transición de la sustancia orgánica á la sustancia organizada.

Comprendo perfectamente, que es esta una cuestión extremadamente compleja y difícil, y que sus puntos de vista son múltiples, pero no

hallamos en nuestro humilde criterio, un concepto que se avenga mas á la naturaleza de los hechos, para su verdadera interpretacion; es conveniente por tanto que la precisemos, definiendo al mismo tiempo, como debe ser comprendido, el término adoptado de partículas proto-plasmáticas.

Para mí, la dificultad que existe, para poder conceptuar las diástasas definitivamente, ya sea como sustancias simplemente orgánicas, ó como sustancias orgánicas *organizadas*, cuya accion fuera inherente á ésta última cualidad, por proceder y ser parte integrante de un conjunto organizado, estriba en los estrechos vinculos que unen á todas las cosas de la naturaleza, y que así, que del mismo modo que no es posible establecer limites ó divisiones absolutas entre los seres en particular, ya sean estos vegetales ó animales, ya sean en general, entre vegetales y animales, creo que esa misma imposibilidad existe para establecer un límite absoluto, entre el mundo organizado y el inorganizado, puesto que en todo, solo observamos gradaciones ó transiciones que nos conducen de los unos á los otros.

Es por este motivo, que á mi manera de ver, las diástasas, son el punto de transicion entre la sustancia orgánica simple y la organizada, lo que imposibilita el que las podamos considerar como sustancia *netamente vital*; pues en nuestro concepto, lo mismo que de las toxinas á las diástasas, no hay mas que un paso, de las diástasas á la materia organizada no hay igualmente mas que otro paso; bien entendido siempre que se considere como límite de la materia organizada la célula mas simple ó citodo.

Ahora bien: si hasta hace poco tiempo, dado el número reducido de diástasas que se conocían, se las consideraba solamente susceptibles de producir fenómenos hidrolípticos, que se han comparado á los que producen ciertos cuerpos químicos (ácidos minerales) y por tanto referibles en funcion, hoy despues de los estudios de Hanriot, sobre la lipasa, ó sea la diástasa capaz de desdoblar los cuerpos grasas, de los de G. Bertrand sobre las diástasas oxidantes laccasa, tirosinasa, etc., de las de Rey de Pailhade sobre las hidrogenantes y de los de Buchner, sobre las diástasas alcohólicas etc., el estudio de estas se

hace evidentemente más accesible, y aunque la cuestión no pueda resolverse de una manera definitiva, trataremos de hacerlo, aunque brevemente, en la forma que á esa más se aproxime.

Para esto, no sólo es necesario que examinemos sus propiedades, sino que también con arreglo á estas, su probable modo de obrar, á fin de poder establecer, si en realidad los fermentos solubles son sustancias *simplemente* químicas, y que por tanto los fenómenos hidrolípticos que ellos producen son absolutamente comparables en su forma y en su causa, á los que las sustancias inorgánicas de que hemos hablado realizan ó si son sustancias orgánicas organizadas, que aún en el caso de que la causa y el fenómeno sean iguales, el mecanismo que origine esa causa sea distinto; es decir, si la causa del fenómeno hidrolíptico producido por un ácido mineral por ejemplo y por una diástasa, se origina de la misma manera.

Ahora bien: los fenómenos hidrolípticos producidos por los ácidos, sólo nos es posible explicarlos de estos dos modos: primero, por la penetración inherente á su tensión gaseiforme, y á la presión osmótica originada por el movimiento expansivo de sus moléculas, y segundo, por la influencia que esos fenómenos ejercen sobre la sustancia á intervertir; es decir, por fenómenos de conductibilidad eléctrica molecular, producida por el frotamiento de las moléculas, y dependientes de la división de las moléculas disueltas, de su naturaleza y actividad química, ocasionando una disociación electrolítica; ó bien, por la producción de energías térmicas, ocasionadas por el roce molecular de los cuerpos accionantes, que obrarían como causa inicial de los productos del desdoblamiento, es decir, en virtud del principio de trabajo máximo. Sacar. 533,8—glucosa y levulosa 303,8 = 607,6.

Como se vé, estas dos interpretaciones en el fondo son absolutamente iguales, y por cualquiera de las dos llegamos á explicar científicamente el fenómeno, pero, ¿puede explicarse la producción de la causa que origina el fenómeno, cuando éste es efectuado por fermentos solubles, con arreglo á las interpretaciones arriba expuestas?

Creemos que nó. Sus propiedades físicas, excluyen desde luego esa posibilidad, y por acción de su constitución química no es probable, si se

tiene en cuenta su integridad, en la accion y luego de ésta; por otra parte, la disminucion en su actividad, que se observa, á medida que la intervencion de la sacarosa avanza, como lo han demostrado O'Sullivan y Tomsom, hecho que ha sido asimilado por M. Duclaux al de la perturbacion que originan en los microbios los productos de su propia accion, la influencia del calor y la de los antisépticos, su accion no inmediata, ó sea mas bien el período de incubacion necesario para que ella se ejerza, etc., y aunque esto último no contravenga en absoluto á que su accion fuera puramente química, explicable por una lentitud de reaccion dependiente de su grado de conductibilidad, como es comun en las moléculas á funcion mixta; todos estos hechos, examinados y relacionados entre sí parecen demostrarnos, que la molécula puramente química, sería incapaz de explicárnoslos.

Además, si á esto se agrega la existencia de diastasas hidrogenantes, oxidantes, etc., y muy particularmente la de diastasas que fermentan el azúcar, produciendo alcohol, realizando no solo la hidrolizaci6n de la molécula de la sacarosa, sinó tambien su desdoblamiento en alcohol y en ácido carbónico como si fuera la misma célula de que procede, y que esta diástasa es obtenida por Buchner *desorganizando* las células de levadura, y es pues por estas consideraciones y por todas las demás anteriormente expuestas, que hemos adoptado el término de partículas protoplasmáticas ó moléculas organizadas, conceptuándolas como el *minimum* de la organizaci6n, ó sea el punto de transici6n de la materia organizada á la inorganizada; puesto que entonces dependiendo su accion de su organizacion, todos los hechos expuestos serian perfectamente explicables, como consecutivos de fenómenos, en cierto modo *vitales*.

Así comprendidas las diastasas, su produccion se infiere, como lo hemos hecho anteriormente, es decir, por una desintegracion del protoplasma celular, provocada por determinadas sustancias; del mismo modo que los fenómenos que esta desintegracion puede originar, segun sea mas ó menos profunda, dependiendo evidentemente de las sustancias que la provoquen y de las condiciones en que esto se haga.

Ahora antes de terminar, me permitiré una digresion que considero importante: Demostrada

por todo lo expuesto la exactitud de la hipótesis de Brefeld, de que las bacterias resultan de una simplificación de hongos mas elevados, cuya simplificación hemos demostrado que es debida á la pérdida de la membrana metacelulósica, por un profundo proceso de degeneración mucilagínosa, y en cuya evolucion regresiva las streptotricáceas representan el punto de transición entre esos hongos y las bacterias, no me es posible por el momento avanzar ideas respecto á las relaciones que estos hechos tendrán con la higiene, y las modificaciones que puedan aportarle, una vez conocidos como lo serán posiblemente en breve los hongos de donde proceden las demás bacterias, de las variedades y razas, de que éstas son susceptibles y los conocimientos verdaderos, acerca de las causas de los desdoblamientos del protoplasma, que originan la inocuidad y la virulencia, á fin de que pueda establecerse la significación real del *sapofitismo* y del *parasitismo*.
