

INVENTARIADO

REVISTA  
DE LA  
FACULTAD DE AGRONOMIA Y VETERINARIA

DICIEMBRE 1949

ENTREGAS II-III

TOMO XII

INSTITUTO DE CLINICA MEDICA Y QUIRURGICA  
DE ANIMALES PEQUEÑOS

Tratamiento de las formas no complicadas de  
demodeccia del perro por el jabón cálcico de  
aceite de chaulmoogra, por vía oral

POR EL DOCTOR ANÍBAL DA GRAÑA (\*)

Barat <sup>1</sup>, en 1926, agrega el aceite de chaulmoogra a la extensa lista de medicamentos externos empleados para combatir la demodeccia del perro.

Lo emplea en aplicaciones externas, asociado al éter sulfúrico y al ácido fénico, en las formas *secas* de la enfermedad. Trata alrededor de 50 perros con formas «escamosas», localizadas y generalizadas, obteniendo curaciones al cabo de 3-6 semanas, con reintegración completa del pelaje y retorno de la piel al estado normal, sin recidivas.

Pero la dificultad de tratar las localizaciones peribucales, tan frecuentes, con los trastornos consecutivos originados por la ingestión del medicamento; la sensibilidad de la piel frente a la acción del aceite de chaulmoogra cuando se lo emplea en forma de fricciones, y el olor desagradable del mismo, determinaron al mismo Barat a probarlo en otra forma de aplicación. La preparación que empleaba como tópico, esterilizada, inyectada en el tejido conjuntivo subcutáneo del sitio ocupado por las lesiones de piel, utilizada así por Barat, tuvo que ser abandonada debido a la formación de escaras por la acción irritante del aceite de chaulmoogra. Preconiza, entonces, ensayar las inyecciones endovenosas del aceite de chaulmoogra en la misma forma que se emplea en medicina humana para tratar la lepra, y espera con ello que una adaptación

(\*) Profesor titular y Director del Instituto de Clínica Médica y Quirúrgica de animales pequeños.

del medicamento haga del mismo el tratamiento específico de la demodectia.

A raíz de la publicación de Barat, en la que insinúa los ensayos de tratamiento por vía endovenosa, comenzamos en 1927 (Cánepa y Da Graña, cuyos resultados fueron publicados en 1941) <sup>2</sup> a probar de inyectarlo por vía subcutánea e intramuscular; primero tal cual, luego lavado: los sujetos inyectados morían.

Después de estos ensayos comenzamos a utilizar el «Chaulmestrol» y el «Neochaulmestrol» Bayer (éster benzílico de los ácidos grasos del aceite de chaulmoogra), en inyección subcutánea. Unido a una perfecta tolerancia, muestra una notable eficacia en las formas *no complicadas* de la enfermedad, como también en la mayor parte de los sujetos atacados por formas complicadas, acneicas.

Coinciden estos resultados con los obtenidos por Rathsan y Paiva Meira <sup>3, 4, 5</sup>, con el chaulmoograto de etilo creosotado al 4 % en inyecciones subcutáneas y aplicaciones locales simultáneamente, y posteriormente sólo en aplicaciones externas.

Con estos antecedentes y considerando que el número de inyecciones puede resultar relativamente elevado en algunos casos, hemos tratado de probar el tratamiento de la enfermedad por vía oral, forma de administración simple, factible y cómoda en todos los casos.

Hemos utilizado con ese fin comprimidos de jabón cálcico de aceite de chaulmoogra que se emplean en el tratamiento de la lepra en la especie humana. Cada comprimido corresponde a gr. 0,20 de aceite de chaulmoogra.

Dosis. Dos comprimidos por día para los perros de gran talla y uno para los de mediana y pequeña talla (corresponde a gr. 0,40 y 0,20, respectivamente, del aceite de chaulmoogra). Se administran indistintamente a cualquier hora del día, en relación o no con las comidas.

El medicamento es bien tolerado a esas dosis. La intolerancia, raramente observada, y sobre todo en perros de pequeña talla, se manifiesta en forma de vómitos y diarreas. En estos casos basta suspender la medicación por una semana y recomenzar con la mitad de la dosis primitiva no tolerada.

La administración prolongada (hasta 3 meses), a dosis correcta, no provoca trastorno alguno en los sujetos sometidos a tratamiento.

En esta forma fueron tratados 23 perros con distintas formas clínicas de demodectia *pura*, *libres de complicaciones piógenas*, y en distinto estado de evolución.

En todos los casos se comprobó, previamente, la presencia del De-

modex en los preparados microscópicos obtenidos por el raspado de piel de los animales enfermos. En 19 de los 23 animales tratados, en un período que oscila de 1 a 3 meses, se reparan íntegramente las lesiones cutáneas, se repone el pelaje y el exámen microscópico de los raspados de piel resulta negativo en la búsqueda del parásito y sus huevos. Doce de ellos pudieron ser observados durante 2 años, sin haber presentado recidivas.

En los 4 restantes no se pudo terminar la observación por haber dejado de concurrir antes de finalizar el tratamiento; pero en todos ellos las lesiones cutáneas se mantienen estacionarias o mejoran después del primer mes, y los preparados microscópicos de los raspados de piel muestran escasos Demodex.

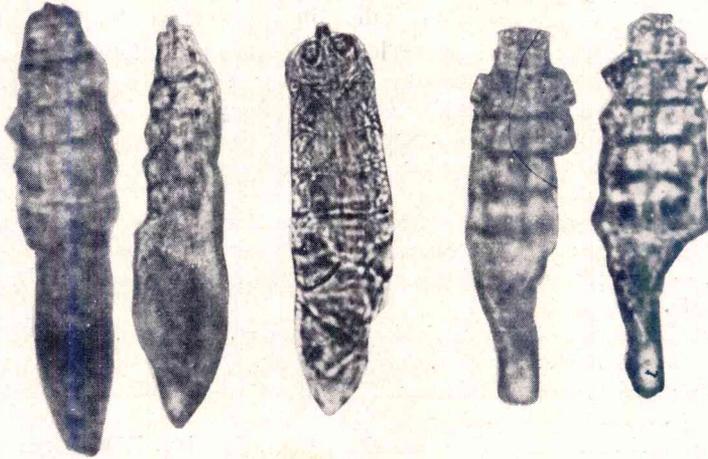


Fig. 1

Demodex modificados observados en raspados de piel, 1 mes después de iniciado el tratamiento. Deformación y atrofia del abdomen en distinto grado. (Oc. IV, obj. 5, Leitz. Copia ampliada x 3).

En la mayor parte de los sujetos tratados hemos observado que, a partir de la cuarta a quinta semana de iniciado el tratamiento, el examen microscópico de los raspados de piel, muestra una notable disminución en el número de Demodex, muchos de los cuales aparecen deformados: su abdomen se atrofia en distinto grado, hasta que en algunos queda reducido a un pequeño apéndice del céfalotorax, (Fig. 1. Fig. 2, b). Estas deformaciones preceden a corto plazo a la desaparición del parásito de las lesiones de piel.

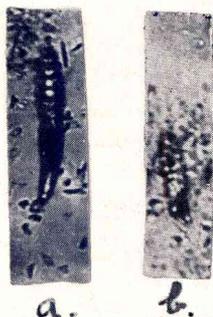


Fig. 2

En a, Demodex normal; en b, Demodex modificado. Ambos pertenecen al mismo preparado microscópico obtenido por raspado de piel 1 mes después de iniciado el tratamiento. (Oc. IV, obj 3, Leitz. Copia ampliada x 2)

#### CASOS CLÍNICOS TRATADOS

Nº. 1. — Canino, macho, Pomerania. 4 meses de edad. *Demodeccia seca, limitada* (lente demodéctico y piel de ambos miembros anteriores); data de 1 mes.

Tratado con 1 comprimido diario durante 3 meses. Curación. Demodex en piel después del tratamiento: Negativo. Sin recidiva (2 años de observación).

Nº. 2. — Canino macho, Doberman Pinscher, 3 meses de edad. *Demodeccia seca, generalizada*; data de 1 mes.

Tratado con 1 comprimido diario durante 2 meses. Curación. Demodex en piel después del tratamiento: Negativo. Sin recidiva (2 años de observación).

Nº. 3. — Canino, macho, Doberman Pinscher, 3 meses de edad. *Demodeccia seca, generalizada*. Data de 1 mes.

Tratado con 1 comprimido diario durante 2 meses. Curación. Demodex en piel después del tratamiento: Negativo. Sin recidiva (2 años de observación).

Nº. 4. — Canino, macho, Deberman Pinscher, 3 meses de edad. *Demodeccia seca, generalizada*. Data de 1 mes.

Tratado con 1 comprimido diario durante 3 meses. Curación. Demodex en piel después del tratamiento: Negativo. Sin recidiva (2 años de observación).

Nº. 5 — Canino, macho, Doberman Pinscher, 9 meses de edad. *Demodeccia Circinada* (placas en mejillas y miembros anteriores). Data de 1 mes.

Tratado con 2 comprimidos diarios durante 3 meses. Nuevas lesiones en el primer mes de tratamiento; curación al tercer mes. Demodex en piel después del tratamiento: Negativo.

Nº. 6 — Canino, hembra, Chow-Chow, 9 meses de edad. *Demodeccia seca*, localizada en el dorso de la nariz y ambos antebrazos. Data de 6 meses.

Tratado con 2 comprimidos diarios durante 2 meses. Curación. Demodex en piel después del tratamiento: Negativo. Sin recidiva (2 años de observación).

Nº. 7. — Canino, macho, Chow-Chow, 9 meses de edad. *Demodeccia seca, generalizada*. Data de 1 año.

Tratado con 2 comprimidos diarios durante 1 mes. Curación. Demodex en piel después del tratamiento: Negativo.

Nº. 8. — Canino, hembra, Fox Terrier, 7 meses de edad. *Demodeccia seca*, generalizada. Data de 4 meses.

Tratado con 1 comprimido diario durante 2 meses. Curación. Demodex en piel después del tratamiento: Negativo. Sin recidiva (2 años de observación). Este sujeto manifestó intolerancia con 2 comprimidos a la semana de iniciar el tratamiento.

Nº. 9. — Canino, macho, Doberman Pinscher, 5 meses de edad. *Demodeccia seca*, generalizada.

Tratado con 2 comprimidos diarios, durante 3 meses. Curación. Demodex en piel después del tratamiento: Negativo. Sin recidiva (2 años de observación).

Nº. 10. — Canino, macho, Gran Danés, 4 meses de edad. *Demodeccia seca*, circinada, localizada en la región del encuentro derecho. Data de 10 días.

Tratado con 2 comprimidos diarios durante 3 meses. Curación. Demodex en piel después del tratamiento: Negativo. Sin recidiva (2 años de observación).

Nº 11. — Canino, macho, común, 3 meses de edad. *Demodeccia seca*, localizada en el dorso de la nariz. Data de 15 días.

Tratado con 1 comprimido diario durante 1 mes. Curación. Demodex en piel después del tratamiento: Negativo. Sin recidiva (2 años de observación).

Nº 12. — Canino, macho, Setter Irlandés, 1 año de edad. *Demodeccia seca*, limitada, localizada en los labios. Data de 15 días.

Tratado con 2 comprimidos diarios durante 1 mes. Curación. Demodex en piel después del tratamiento: Negativo. Sin recidiva (2 años de observación).

Nº 13. — Canino, macho, Boxer, 1 año de edad. *Demodeccia seca*, generalizada.

Tratado con 2 comprimidos diarios durante 1 mes. Curación. Demodex en piel después del tratamiento: Negativo. Sin recidiva (2 años de observación).

Nº 14. — Canino, hembra, Pointer, 4 meses de edad. *Demodeccia seca*, generalizada. Data de 15 días.

Tratado con 1 comprimido diario durante 1 mes. Curación. Demodex en piel después del tratamiento: Negativo. Sin recidiva (2 años de observación).

Nº. 15. — Canino, hembra, Fox-Terrier, 1 año de edad. *Demodeccia seca*, generalizada.

Tratado con 2 comprimidos diarios, durante 2 meses. Lesiones estacionarias. Demodex en piel después del tratamiento: Positivo. No se pudo continuar la observación por haber dejado de concurrir.

Nº. 16. — Canino, macho, Scottish-Terrier, 9 meses de edad. *Demodeccia seca*, limitada (placa circinada sobre un párpado). Data de 1 mes.

Tratado con 1 comprimido diario durante 2 meses. Curación. Demodex en piel después del tratamiento: Negativo. Sin recidiva (2 años de observación). Este sujeto manifestó intolerancia con 2 comprimidos a los diez días de iniciarse el tratamiento.

Nº. 17. — Canino, macho, Dachshund, 3 meses de edad. *Demodeccia seca*, limitada (placa sobre una mejilla). Data de 1 semana.

Tratado con 1 comprimido diario durante 2 meses. Curación. Demodex en piel después del tratamiento: Negativo.

Nº. 18. — Canino, hembra, Schnauzer Pinscher, 6 meses de edad. *Demodeccia seca*, limitada (párpados y frente).

Tratado con 2 comprimidos diarios durante 1 mes. Curación. Demodex en piel después del tratamiento: Negativo. Sin recidiva (2 años de observación).

Nº. 19. — Canino, hembra, Doberman Pinscher, 6 meses de edad. *Demodeccia seca* (lesiones circinadas en cabeza, cuello y miembros).

Tratado con 2 comprimidos diarios durante 2 meses. Curación. Demodex en piel después del tratamiento: Negativo. Sin recidiva (2 años de observación).

Nº 20. — Canico, macho, Fox Terrier, 8 meses de edad. *Demodeccia seca* (piel de una oreja). Data de 1 mes.

Tratado con 1 comprimidos diario durante 1 mes. Curación. Demodex en piel después del tratamiento: Negativo.

Nº 21. — Canino, macho, Pointer, 1 año de edad. *Demodeccia seca*, generalizada. Data de 3 meses.

Tratado con 2 comprimidos diarios durante 2 meses. Lesiones estacionarias. Demodex en piel: Positivo (escasos Demodex). No se pudo continuar con la observación por haber dejado de concurrir.

Nº 22. — Canino, macho, Dachshund, 3 meses de edad. *Demodeccia seca*, región occipital. Data de 1 mes.

Tratado con 1 comprimido diario durante 2 meses. Curación. Demodex en piel después del tratamiento: Negativo.

Nº 23. — Canino, macho, Ovejero Alemán, 1 año de edad. *Demodeccia seca*, generalizada. Data de 2 meses.

Tratado con 2 comprimidos diarios durante 2 meses. Mejoría de las lesiones. Demodex en piel después del tratamiento: Positivo (escasos Demodex). No se pudo terminar la observación por haber dejado de concurrir.

#### CONCLUSIONES

La administración de jabón cálcico de aceite de Chaulmoogra por vía oral, en perros afectados de demodeccia *no complicada*, muestra notable eficacia en el tratamiento de esa forma de la enfermedad. La curación se obtiene en un período que oscila de 1 a 3 meses, con desaparición del parásito de las lesiones cutáneas, y sin recidivas.

Administrado a dosis correctas, que corresponden a gr. 0,20 de aceite de chaulmoogra para los perros de mediana y pequeña talla y gr. 0,40 para los de talla grande, por día, los fenómenos de intolerancia son raramente observados, leves y fugaces si se interrumpe el tratamiento por breve tiempo, pudiendo ser reiniciado, sin consecuencias, disminuyendo la dosis primitiva no tolerada.

#### CONCLUSIONS

The administration of calcic soap of Chaulmoogra oil by oral conduct in dogs affected of Demodexia, *not complicated*, allows a remarkable efficiency in the treatment of this form of the disease. The cure is obtained in a period oscilating between one to three months; the skin parasite of the lesions disappearing without relapse.

If administered in correct doses, that correspond to 0,20 grammes of Chaulmoogra oil for dogs of medium and small size, and to 0,40 grammes daily for big ones, the intolerance phenomena is rarely observed,

then only slightly and briefly if the treatment is interrupted for a short time, and may be reinitiated without consequence, diminishing the original dose not tolerated.

#### BIBLIOGRAFIA

1. BARAT, M., 1926, *L'huile de Chaulmoogra dans le traitement de la démodécie*. Rec. de Méd. Vét. T. CII, N° 19. Pág. 666-669.
2. CÁNEPA, E. y DA GRAÑA, A., 1941, *Consideraciones sobre el tratamiento de la demodécia del perro*. Jornadas Agronómicas y Veterinarias. Facultad de Agronomía y Veterinaria de Buenos Aires.
3. RATHSAN, E. W. y PAIVA MEIRA, M. de, 1940, *Chaulmoogrotherapy in follicular mange*. (informe resumido). Journ. Amer. Vet. Med. Assoc. T. 97. N° 761. Agosto de 1940. Pág. 166.
4. RATHSAN, E. R. y PAIVA MEIRA, M. de, 1940, *La Chaulmoogroterapia en la sarna demodécica de los perros*. Rev. de Med. Vet. de Bs. As. Vol. 22. N° 5-6, Mayo-Junio. Pág. 219.
5. RATHSAN, E. R. y PAIVA MEIRA, M. de, 1943, *Chaulmoogroterapia na sarna demodéxica dos cães*. Monografía. San Pablo.

## INSTITUTO DE ANATOMIA

---

# Histofisiología de la tiroides del pollo durante sus primeros días de vida <sup>(1)</sup>

POR LOS DOCTORES

ESTANISLAO DEL CONTE <sup>(2)</sup> y EMILIO J. COMPTE <sup>(3)</sup>

---

Los resultados discordantes hallados por uno de nosotros (Del Conte, 1944) en el estudio de la influencia de la hormona tireotropa en la tiroides de pollos de pocos días, disentían con el encontrado por otros autores (Smelser, 1938; Cope, 1938; Jones, 1939; Rawson y Salter, 1940; Adams y Beeman, 1942), quienes, en virtud de la gran uniformidad histológica observada, la proponían como muy útil para la valoración biológica de dicha hormona.

La tiroides de aves ha sido, además, relativamente poco estudiada en su histofisiología, y difiere la opinión de los autores sobre algunos de sus problemas (reabsorción del coloide folicular por desintegración epitelial, Florentin y Weiss, 1930; reabsorción transcelular, Severinghaus, 1933).

Ello y la bondad demostrada para el caso del método de fijación previa congelación y desecación de Altmann nos han inducido a estudiar sistemáticamente, con dicho método, la variación normal de la estructura de la tiroides del pollo durante sus primeros días de vida.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se han empleado 67 pollos de raza Leghorn, incubados artificialmente que se sacrificaron 11 al día, 8 a los dos días, 10 a los tres, 5 a los cuatro,

<sup>(1)</sup> Trabajo realizado en el Instituto de Anatomía de la Facultad de Agronomía y Veterinaria y en el de Anatomía General y Embriología de la Facultad de Ciencias Médicas.

<sup>(2)</sup> Jefe de la Sección de Histofisiología del Instituto de Anatomía General y Embriología de la Facultad de Ciencias Médicas.

<sup>(3)</sup> Profesor titular y Director del Instituto de Anatomía de la Facultad de Agronomía y Veterinaria.

5 a los seis, 9 a los ocho, 5 a los trece, 10 a los dieciocho y 4 a los veintiséis días del nacimiento, por un golpe en la cabeza y previo un ayuno de doce horas para evitar activaciones tiroideas de origen metabólico.

Las glándulas, disecadas, se congelaron en aire líquido y se desecaron en alto vacío a  $-30^{\circ}\text{C}$ , tratándose posteriormente con alcohol e incluyéndose en celoidina. Los cortes fueron coloreados con azul de anilina y naranja G (De Robertis, 1941).

#### OBSERVACIONES

Es notable como carácter general en el material estudiado por nosotros, la falta de uniformidad estructural entre los individuos correspondientes a cada grupo, entre las zonas de cada tiroides y aún dentro de

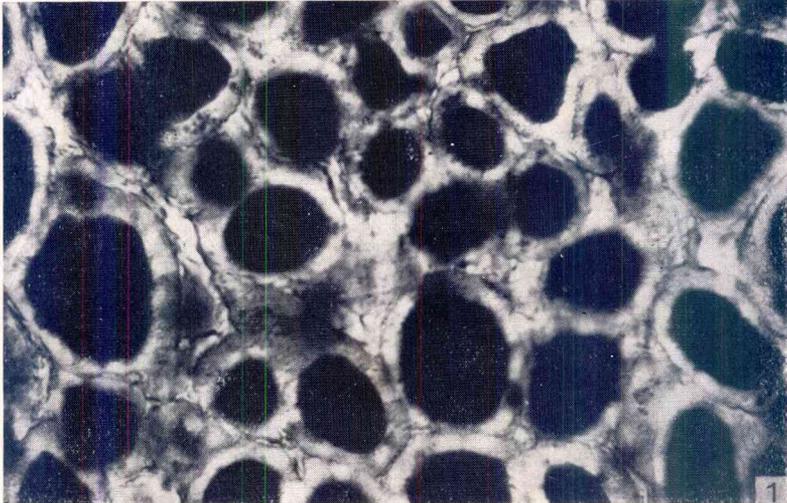


FIG. 1. Tiroides de un pollo de 1 día. Discreta cantidad de coloide intracelular.

cada foliculo. Ello no impide que puedan observarse con seguridad ciertas características de grupo. No han podido apreciarse, en ningún caso, diferencias concordantes con el sexo.

En los pollos de un día (figura 1) los foliculos son de tamaño medio, con bastante oscilación. El coloide folicular llena uniformemente la cavidad; en la mayor parte de los casos, toma con intensidad el azul de anilina; en otros aparece, total o parcialmente, algo más claro. El epitelio es cuboideo con variaciones aún dentro de un mismo foliculo y el coloide intracelular abundante, se dispone en forma de gotas de diferente tamaño. Estas, que se colorean igual que el coloide folicular, llenan a ve-

ces casi todo el citoplasma, aunque aparecen con mayor frecuencia en su porción apical. Su distribución no es siempre uniforme en el epitelio de cada folículo; en ocasiones, una célula o un grupo de células las contienen en alto grado mientras faltan en sus vecinas; en estos casos suelen coincidir con las regiones más claras del coloide folicular. En los folículos claros las gotas parecen ser más pequeñas y numerosas que en los otros. Se encuentran a veces divertículos pseudofoliculares, constituidos por una considerable cantidad de coloide limitada por una estrecha banda citoplasmática.

En el segundo día se observa un aspecto general similar; pero existe una reducción apreciable en el número de gotas de coloide intracelulares.

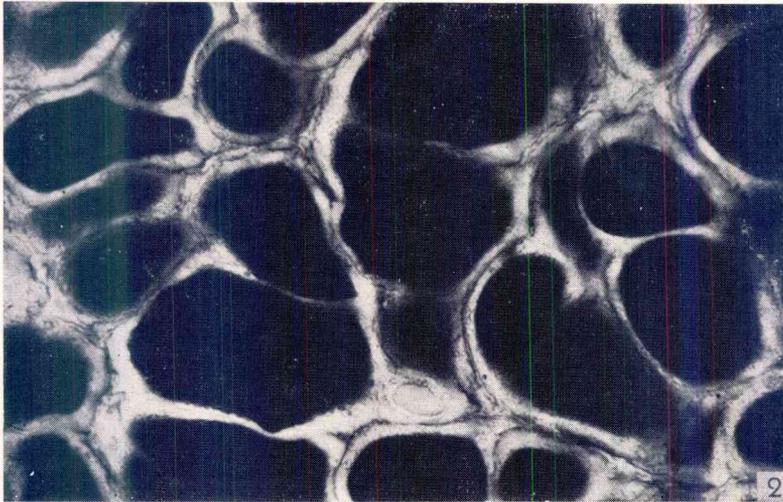


FIG. 2. Tiroides de un pollo de 3 días. Aumento del tamaño y coalescencia de los folículos. Disminución de la altura del epitelio y del coloide intracelular.

En las tiroides de pollos de tres días (figura 2), la estructura ha cambiado notablemente. Los folículos han aumentado su diámetro medio y en muchos casos se ve que la doble pared epitelial que separa dos contiguos está extraordinariamente adelgazada, observándose dificultosamente o no observándose la trama reticulínica; en ocasiones se encuentra un tabique incompleto. La altura general del epitelio ha descendido y el coloide intracelular es extraordinariamente escaso.

En el cuarto día se observa una disminución en el tamaño folicular y un aumento en el coloide intracelular. Estas modificaciones se acentúan en el sexto día, en que llama la atención la mayor altura del epitelio

y el borde apical de sus células, que se vuelve irregular por la emisión de prolongamientos que hacen hernia en la cavidad folicular.

En el octavo día (figura 3) los folículos se presentan pequeños, con escasa cantidad de coloide unos y colapsados o casi los restantes. El epitelio es alto y el borde apical de sus células, convexo. Existe gran cantidad de gotas de coloide intracelulares, que se disponen de preferencia en la porción apical. Algunas de ellas, de gran tamaño, sólo se hallan separadas del coloide folicular por una tenue banda citoplasmática.

En el décimotercer día, se observan aún las características del grupo anterior, aunque algo atenuadas; pero en el décimooctavo (figura 4) el coloide folicular se hace más abundante, mientras que el epitelio aparece bajo, con superficie plana y sólo discreta cantidad de coloide en sus

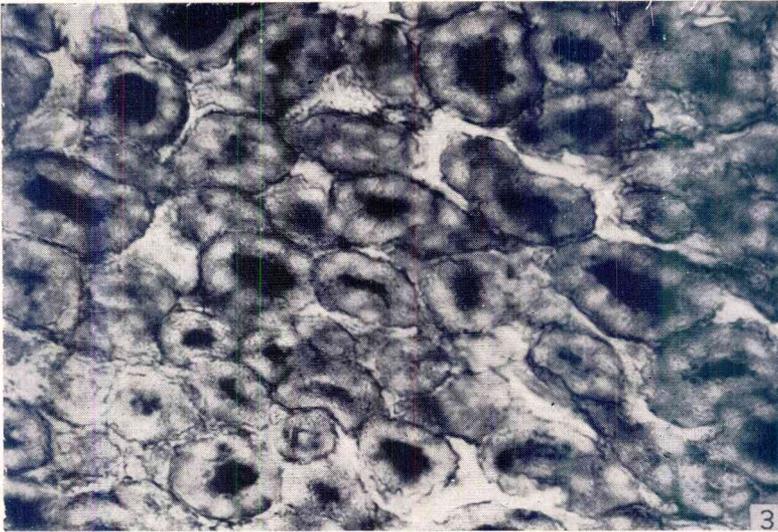


FIG. 3. Tiroides de un pollo de 3 días. Disminución de tamaño y colapso de los folículos. Gran aumento de la altura del epitelio y del coloide intracelular.

células. Parecido y con folículos algo mayores, es el aspecto de las tiroides de pollos de veintiséis días.

#### DISCUSIÓN

Nuestras observaciones permiten comprobar nuevamente, y esta vez en aves, la bondad del método de Altmann para el estudio de la citología tiroidea (De Robertis, 1941 y 1942, y Del Conte, 1944 y 1947, en mamíferos; De Robertis y Del Conte, 1942, en anfibios). No se observan con

él vacuolas cromóforas en la cavidad folicular ni en las células, por lo que deben ser consideradas artificios de los fijadores químicos.

La falta de uniformidad en la estructura tiroidea de individuos de igual edad que han recibido análogo tratamiento, explica los deficientes resultados de nuestros ensayos previos de determinación de hormona tireotropa por su intermedio, y contradice los hallazgos de varios autores. En efecto, Cope alaba la constancia histológica en diversos animales y aún dentro de cada glándula; Rawson y Salter encuentran que la altura del epitelio en los pollos de seis días es escasa y uniforme y toman su medida como índice para determinar la hormona tireotropa; Adams y Beeman, por otra parte, llegan a análogas conclusiones. Es probable que la discordancia se deba a una menor homogeneidad genética de los

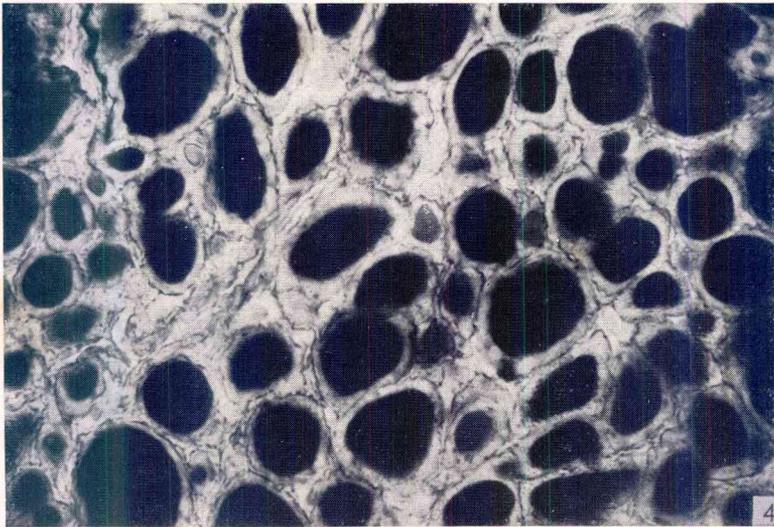


FIG. 4. Tiroides de un pollo de 13 días. Vuelta al tipo histológico inicial.

animales empleados por nosotros, o a que un método de fijación más preciso pone de manifiesto diferencias no apreciables de otro modo. Mas de acuerdo con las nuestras, se hallan las observaciones de Severinghaus en pato, quien hace notar las diferencias en la altura del epitelio que se encuentran en una misma glándula y aún en un mismo folículo.

A pesar de la relativa heterogeneidad, es indudable la existencia de fases de diferente actividad tiroidea en el período estudiado. A juzgar por el cuadro histológico, ésta desciende desde el nacimiento hasta el tercer día de vida, para ascender luego y llegar a un máximo entre el octavo

y el décimotercero, y reducirse finalmente hacia el décamo octavo, en que parece similar a la inicial. Esta observación disiente con las de Cope, que no encuentra variaciones en las dos primeras semanas, y las de Adams y Beeman, que no las hallan en los seis días iniciales; se acerca, en cambio, a las de Jones, que aprecia un aumento de la actividad histológica desde el tercero al décimotercer días, y a las de Watzka (1934), que lo nota desde el nacimiento hasta el quinto día, aunque sin describir la fase de hipofunción. El período de hiperactividad corresponde a una etapa de intenso desarrollo corporal en que emergen las pennas en alas y cola, lo que permite presumir una correlación funcional. No parece probable que la causa de dicha hiperfunción sea el descenso de temperatura consecutivo al nacimiento, como cree Watzka por comparación con las aves de vida libre, ya que previamente ha existido un período de depresión; en estas aves, en cambio, la hiperactividad es inmediata. La temperatura ambiente, por lo demás, ha sido mantenida constante en los pollos estudiados por nosotros y no puede ser origen de una reacción tardía.

El coloide intracelular disminuye en los períodos en que se llena la cavidad folicular y aumenta cuando se vacía. Ello parece indicar que, fundamentalmente, corresponde a coloide en reabsorción y que el mecanismo de secreción hacia el folículo es submicroscópico. No se puede excluir, sin embargo, la posibilidad de que se superpongan algunas imágenes de secreción hacia el folículo o directamente hacia los capilares (Bensley, 1916; Severinghaus, 1933; De Robertis, 1941).

La emisión de prolongamientos celulares irregulares apicales durante el comienzo de la reabsorción, sugiere la existencia de fagocitosis o englobamiento del coloide, descritos por Williams (1937) en observaciones «in vivo» y por Ponse (1938). Esto explicaría, a su vez, la existencia de gotas rodeadas por una estrecha banda citoplasmática haciendo hernia en la cavidad folicular, que deberían interpretarse, por lo tanto, como figuras de reabsorción y no de secreción hacia el folículo como lo hace De Robertis (1942).

No es apreciable otra vía para la reabsorción que no sea la transcelular. En ningún caso se observan estructuras que hagan pensar que el coloide se vierte en los capilares por desintegración del epitelio, como lo sostienen Florentin y Weiss en otras aves. Los únicos casos en que el epitelio parece sufrir una regresión parcial son los correspondientes a paredes contiguas de dos folículos, observados en tiroides inactivas, como las del tercer día, y esto sugiere más la coalescencia de los mismos que su destrucción.

Por otra parte, pueden interpretarse como puntos de partida para la formación de nuevos folículos (Severinghaus) los divertículos pseudofolículos

liculares formados aparentemente por englobamiento de grandes porciones de coloide.

*Las figuras 1 a 4 son fotomicrografías de cortes de tiroides de pollo fijadas previa congelación y desecación, coloreadas con azul de anilina y naranja G; se obtuvieron con objetivo para inmersión 90x.*

#### RESUMEN

Las tiroides de pollos jóvenes presentan poca uniformidad, individual y de grupo, en su estructura. Se reconoce, sin embargo, histológicamente, un descenso de su actividad hasta el tercer día, un aumento que llega a su máximo entre el octavo y el décimotercero, y una nueva reducción hasta el vigésimosexto.

El coloide intracelular, que se dispone en gotas preferentemente apicales, aumenta en los períodos en que se vacía el foliculo y debe considerárselo fundamentalmente producto de la reabsorción. No se observa otra vía para este proceso que la transcelular.

Algunas estructuras parecen indicar la fagocitosis del coloide; otras, la coalescencia de folículos vecinos o la formación de otros nuevos. No se aprecian, con el método de fijación previa congelación y desecación empleado, vacuolas cromóforas en el coloide folicular ni en el epitelio.

#### S U M M A R Y

The thyroids of young chicks present little uniformity in their structure, either individually or grouped. An increase however, is histologically recognized, that reaches its maximum between the eighth and the thirteenth days, and a new decrease up to the twentysixth.

The intracelular colloid, which is preferentially disposed off in apical drops, increases in the periods in which the follicle is emptied, and it has to be fundamentally considered a product of reabsorption. No other than the transcellular conduct is observed for this process.

Some structures seem to indicate the phagocytosis of the colloid; others the coalescence of adjacent follicles, or the formation of other new ones. With the method of fixing, previous to solidification and desiccation, cromophobic vacuale in the follicular colloid nor in the epithelium, have appeared.

## BIBLIOGRAFIA

- ADAMS, A.E. y BEEMAN, E. A.: *The reaction of the chick thyroid to frog and mouse anterior pituitaries*. Endocrinology, 1942, 31: 128.
- BENSLEY, R. R.: *The normal mode of secretion in the thyroid gland*. Am. J. Anat., 1916, 19: 37.
- COPE, C. L.: *The young chick as test for the thyrotropic hormone*. J. Physiol., 1938, 94: 358.
- DEL CONTE, E.: *Estudios sobre la determinación de la hormona tireotropa de la hipófisis por el método citológico*. Bibl. Inst. Mitre, Buenos Aires, 1944.
- DEL CONTE, E.: *Sensibilidad de la tiroides de ratas normales e hipofisoprivas a las pequeñas dosis de hormona tireotropa hipofisaria*. Arch. Soc. Argent. Anat. N. y Pat., 1947, 9: 127.
- DEL CONTE, E.: *Determinación de la hormona tireotropa en la sangre mediante el método citológico; su aplicación a la clínica*. An. VII Congr. Nac. Méd., La Plata, 1947 (en prensa).
- DEL CONTE, E.: *Contribución del coeficiente citológico a la fisiología y patología de la correlación hipofisotiroides*. El Ateneo, Buenos Aires, 1949.
- DE ROBERTIS, E.: *The intracellular colloid of the normal and activated thyroid gland of the rat studied by the freezing-drying method*. Am. J. Anat., 1941, 68: 317.
- DE ROBERTIS, E.: *Inversión de la polaridad secretora de la célula tiroidea*. Rev. Soc. Arg. Biol., 1941, 17: 427.
- DE ROBERTIS, E.: *Intracellular colloid in the initial stages of thyroid activation*. Anat. Rec., 1942, 84: 125.
- DE ROBERTIS, E. y DEL CONTE, E.: *El coloide intracelular de la tiroides del Bufo arenarum (Hensel) normal y en hiper e hipofunción*. Rev. Soc. Arg. Biol., 1942, 18: 547.
- FLORENTIN, P. y WEISS, M.: *Phénomènes sécrétoires dans la glande thyroïdes de oiseaux*. Compt. rend. Soc. Biol., 1930, 103: 601.
- JONES, M. S.: *A study of thyrotropic hormone in clinical states*. Endocrinology, 1939, 24: 665.
- PONSE, K.: *Histophysiologie der activation thyroïdienne*. Rev. Suisse de Zool., 1938, 45: 441.
- RAWSON, R. W. y SALTER, W. T.: *Microhistometric assay of thyrotropic hormone in day-old chicks*. Endocrinology, 1940, 27: 155.
- SEVERINGHAUS, A. E.: *Cytological observations on secretion in normal and activated thyroids*. Z. Zellforsch., 1933, 19: 653.
- SMELSER, G. K.: *Chick thyroid responses as a basis for thyrotropic hormone assay*. Endocrinology, 1938, 23: 429.
- WATZKA, M.: *Physiologische Veränderungen der Schilddrüse*. Z. mikrosk-anat. Forsch. 1934, 36: 67.
- WILLIAMS, R. G.: *Microscopic studies of living thyroid follicles in transparent chambers installed in the rabbit's ears*. Am. J. Anat., 1937, 62: 1.

## Investigaciones sobre las bacterias anaerobias activas en el enriamiento industrial del lino (\*)

Por el Ing. Agr. Santos Soriano (\*\*)

---

### I — ANTECEDENTES

Fribes fué el primer investigador que logró aislar en cultivo puro una bacteria anaerobia esporulada, capaz de producir la separación de las fibras en el proceso de enriamiento del lino. Los resultados de esta investigación sólo fueron dados a conocer en una comunicación hecha por Winogradsky, en cuyo laboratorio fué realizado el trabajo, a la Academia de Ciencias francesa, en el año 1895 (1), en la cual se denominó a dicho organismo «la bacteria del enriamiento del lino», estudiándola en sus más importantes propiedades morfológicas y fisiológicas.

Behrens, en 1902, describió un «Clostridio del enriamiento del cáñamo», como el agente específico de la separación de las fibras en esa planta textil. En este caso se trata también de una bacteria anaerobia esporulada, que el autor logró aislar en cultivo puro tan sólo en una ocasión, después de no poco trabajo.

Beijerinck y Van Delden, en 1904, aislaron en cultivo puro y describieron el *Granulobacter pectinovorum* como la bacteria específica activa en el enriamiento del lino, que se encuentra generalmente acompañada por el *Granulobacter urocephalum*, muy poco activo como agente pectinolítico. Ambas bacterias son igualmente anaerobias y esporuladas.

Störmer, en el mismo año, logró aislar el *Plectridium pectinovorum*, bacteria esporulada a la que atribuyó la propiedad de comportarse como

(\*) Trabajo realizado en los laboratorios del Instituto de Microbiología Agrícola, Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad de Buenos Aires.

(\*\*) Director del Instituto y Profesor titular de Microbiología Agrícola.

(1) Ver bibliografía al final del trabajo.

anaerobia facultativa, describiéndola como la bacteria activa en el enriamiento del lino.

Carbone, en 1917, describió y aisló, (aunque en cultivo discutiblemente puro), una nueva bacteria anaerobia absoluta, a la que denominó *Bacillus felsineus*, dotada de una fuerte capacidad pectinolítica, a la cual atribuyó la propiedad específica del enriamiento del cáñamo, lino y otras plantas textiles, sosteniendo que las demás bacterias, anteriormente descritas como capaces de efectuar ese proceso en la naturaleza, no poseían una capacidad pectinolítica como la demostrada por la que él encontrara y debían ser, en consecuencia, consideradas como «pseudo-enriadoras», correspondiendo únicamente a su bacteria la función de verdadera «enriadora».

Ruschmann y Bavendamm, en 1925, aunque comprobaron la propiedad fuertemente enriadora del *Bac. felsineus*, manifiestan la opinión de que en el enriamiento natural del lino, tal como se lo observa en los establecimientos industriales, esa bacteria queda desplazada por las formas que ellos denominan *Bac. amylobacter l.* o sea licuantes de la gelatina, para diferenciarlas de las n.l. o no licuantes, que no poseen propiedades enriadoras.

Sordelli y Soriano, en 1928, aislaron el *Bac. felsineus* en cultivo puro, de un preparado de «Felsinozima» en polvo obtenida de Italia y demostraron, además, la existencia de esa especie de bacteria en la Argentina, en una muestra de tierra y en lino enriado en el laboratorio.

Soriano, en 1929 y en 1930, describió una nueva bacteria anaerobia esporulada, enriadora, a la cual denomina *Bac. Haumanii*, distinta del *Bac. felsineus* de Carbone y del *Bac. amylobacter l.* de Ruschmann, que fué encontrada como contaminante en un cultivo proveniente de material de lino enriado.

Sordelli y Soriano, en 1930, describen el aislamiento y los caracteres del *Bac. felsineus*, en cuya ocasión corroboran las conclusiones de Ruschmann y Bavendamm acerca de las propiedades de esta bacteria en cultivo puro, y demuestran, por procedimientos bacteriológicos y serológicos que esta especie difiere tanto del *Bac. Haumanii* como de otros cultivos de *Bac. amylobacter* probados, en la forma que lo hacen, en general, las especies distintas.

Orla-Jensen y Kluyver, en 1939, estudiaron dos materiales provenientes de enriamiento de lino, tal como se efectúan en la industria en Holanda, y reconocieron que la especie activa, en esas condiciones, era el *Clostridium felsineum*.

Con los trabajos fundamentales aparecidos desde 1895 hasta la actualidad, en el lapso de los 55 años transcurridos desde la descripción

de la primera bacteria enriadora del lino aislada en cultivo puro, citados en la reseña histórica que acaba de efectuarse, las opiniones sostenidas por los autores que se han ocupado de la determinación de la especie bacteriana a la cual debe atribuirse la realización del proceso de enriamiento en las condiciones en que se efectúa en la industria moderna por el método de inmersión del textil en agua, pueden sintetizarse en las dos siguientes: unos, como Fribes, Beijerinck, Ruschmann, etc., atribuyen dicha función al *Cl. pectinovorum*, mientras que Carbone y más recientemente Orla-Jensen y Kluyver sostienen que la especie activa, en esas condiciones, es el *Cl. felsineum*.

En los trabajos realizados en nuestro país en 1928-1930, el autor en colaboración con el Prof. Dr. Sordelli o solo, no logró aislar otras formas de bacterias dotadas de propiedades pectinolíticas que el *Cl. felsineum* y el *Cl. Haumanii*, aunque en el segundo el poder enriador era notablemente inferior al primero y su aislamiento sólo pudo ser efectuado en una sola ocasión, en forma casual, como contaminante de otro cultivo no pectinolítico. La circunstancia de no haber podido comprobar poder enriador alguno en una cepa de *Cl. amylobacter l* recibida directamente de Ruschmann, unida al hecho de que ninguno de los cultivos que pudieron ser clasificados entonces como *Cl. amylobacter* fuera capaz de demostrar esa propiedad, indujo al autor a retomar el problema, para ver si en los procesos naturales de enriamiento por sumersión en agua, tal como se realizan en la industria en el país, es el *Cl. amylobacter* (*Cl. pectinovorum*) o el *Cl. felsineum* la forma predominante y activa o si podía reconocerse, en último caso, alguna otra especie bacteriana pectinolítica, activa en el proceso en cuestión.

En el curso del presente trabajo, se tuvo ocasión de examinar un número relativamente grande de muestras de linos enriados en establecimientos industriales o provenientes de ensayos realizados en algunas reparticiones nacionales, a las que se unieron diversas otras correspondientes a ensayos efectuados en el laboratorio de la Cátedra de Microbiología Agrícola de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de Buenos Aires y finalmente, muestras provenientes de los ensayos de enriamiento hechos en las dependencias de la Cátedra de Cultivos Industriales de la misma Facultad.

## , II — MÉTODOS

Los métodos de investigación utilizados en la ejecución de las distintas etapas del trabajo fueron los siguientes:

1. *Recolección y tratamiento del material*: El material de estudio consistió, generalmente, en muestras de lino enriadas, que se obtuvieron

de los lugares de origen, tomándolas con las precauciones elementales necesarias a objeto de evitar que pudieran mezclarse o contaminarse unas con otras.

Una vez llegadas al laboratorio, las muestras se disponen para ser estudiadas efectuando, de cada una por separado, una suspensión espesa del material microbiano en agua esterilizada, la cual se pasteuriza en baño-maría a 80°C durante 10 minutos para eliminar las formas vegetativas, quedando tan sólo las bacterias esporuladas para ser cultivadas en la operación del aislamiento.

2. *Medios de cultivo:* Los medios de cultivo utilizados para la realización del trabajo se detallan a continuación, agrupados en la forma que sigue:

*Medios de cultivos para los aislamientos:*

a) *Agar de papa glucosado con peptona:* Se prepara con 20 % de papa, 0,5 % de peptona, 2 % de glucosa y 2 % de agar. La reacción se arregla a pH 7-7,2. Para los aislamientos en cajas se agrega, además el 1 % de creta precipitada, pura.

b) *Agar de levadura glucosado:* Se usó la fórmula empleada por Orla-Jensen y Kluyver, pero se utilizó levadura autolizada en la forma que se dirá más adelante en j). Al agua de levadura autolizada de concentración simple, arreglada a pH 7, se agrega 2 % de glucosa y 2 % de agar en rama. En caso de usarse el medio para aislamientos en cajas, se agrega, además, el 1 % de creta, precipitada, pura.

c) *Agar de mosto de malta:* Se preparó con las proporciones indicadas por Beijerinck y van Delden, usando el mosto diluído hasta 2° Brix, adicionado de 2 % de agar y 2 % de creta. El mosto de malta inicial fué preparado siguiendo las prescripciones de Henneberg, y clarificado con clara de huevo, antes de ser utilizado para la confección del agar.

d) *Agar de hígado glucosado:* Fué preparado de acuerdo con las indicaciones de Torrey, usando infusión de hígado (al 50 %), con 1 % de peptona, 1 % de glucosa, 0,1 % de fosfato bipotásico y 2 % de agar, con la reacción arreglada a pH 7-7,2.

e) *Agar de zanahoria:* Se usó la fórmula de Rochaix, algo modificada, descrita en un trabajo anterior (Soriano 1929), empleando jugo de zanahoria exprimida, diluído  $\frac{1}{2}$ , y agar al 2 %. pH: 7-7,2.

f) *Agar de verduras:* Este medio fué desarrollado durante la ejecución del presente trabajo. Su empleo, dió un resultado satisfactorio, superior al de los otros medios ensayados, particularmente al agar de zanahoria, pero no pareció presentar mayores ventajas que otros más simples, co-

mo el agar de papa o el agar de levadura. Las proporciones de los ingredientes son las que siguen: zanahoria 60, papa 20, tomate 20, agua de levadura autolizada 20, agua 80, agar 2 %, pH 7.

*Medios de cultivo para el estudio de los cultivos puros:*

g) *Lino con zanahoria y agua de levadura:* Este medio fué también ideado durante el curso de la presente investigación, y su empleo dió un excelente resultado, no sólo para conseguir un buen desarrollo de los primeros cultivos, a partir de las colonias aisladas, sino también para investigar la capacidad de enriamiento de los mismos y obtener, finalmente, una esporulación satisfactoria.

La composición y preparación del medio es como sigue: Tallos de lino cortados en trocitos de unos 4 a 5 cm. de longitud y hervidos en agua, que luego se elimina; zanahoria cortada en cubitos de unos 0,5 a 0,7 cm. de lado, hervidos en agua, en proporción del 20 %; líquido de ebullición de la zanahoria (infusión de zanahoria) diluída  $\frac{1}{2}$ ; agua de levadura autolizada (doble concentrada) 5 %; creta 0,3 %. Se reparten los tallitos de lino, ya hervidos, en tubos de ensayo, a razón de unos 15 en c|u, se agrega un solo trocito de zanahoria, hervida, se reparte el líquido (compuesto por la infusión de zanahoria diluída  $\frac{1}{2}$ , agua de levadura al 10 %, y creta al 0,3 %), en cantidad de unos 12 ml. por tubo y se coloca finalmente, tapón de vas-par.

h) *Lino:* Trozos de tallos de lino, cortados como en el medio anterior, y distribuidos a razón de unos 15 en cada uno con agua hasta cubrirlos y tapón de vas-par. Conviene agregar 10 % de agua de levadura autolizada y 0,3 % de creta. En este medio se obtiene una buena esporulación, pero la actividad pectinolítica se observa menos nítidamente que con zanahoria.

i) *Zanahoria:* Trozos de zanahoria cortados en cubitos de unos 0,5-0,7 cm. de lado, hervidos al 20 % en agua y distribuídos en tubos con tapón de vas-par. Conviene también agregar 10 % de agua de levadura y 0,3 % de creta.

j) *Agua de levadura glucosada:* El agua de levadura usada en este medio se prepara con levadura autolizada (a 50° C por 24-48 hs.), se diluye luego al 20 % en agua, y se clarifica con clara de huevo. El líquido claro así obtenido resulta doble concentrado, y para usarlo se diluye  $\frac{1}{2}$  con agua; se arregla la reacción a pH 7; se agrega 1 % de glucosa, y se reparte en tubos con tapón de vas-par. Puede agregarse (y en general conviene) 0,5 % de creta, en cuyo caso no es necesario arreglar de antemano la reacción.

k) *Mosto de cereales con creta:* Se empleó la fórmula de Henneberg,

usando dos partes de malta y una de centeno en la harina inicial. Se sacarifica, separando, al final, tan sólo el material grueso, lo cual se consigue pasando por un lienzo y estrujando. Al líquido, con el material fino en suspensión, se agrega 3 % de creta, se reparte en tubos, agitando bien cada vez, y se provee a éstos de tapón de vas-par.

l) *Caldo de hígado glucosado*: El caldo de hígado se prepara como ya se ha dicho anteriormente en d). Se agrega 1 % de glucosa y se distribuye en tubos, también con tapón de vas-par.

m) *Legumbres*: Se usaron alverjas (de acuerdo con Störmer), porotos y garbanzos, obteniéndose mejor resultado con porotos. Se reparte una semilla por tubo, se agrega unos 10 ml. de agua en c|u. y se cubren con vas-par.

n) *Puré de papa*: Se prepara hirviendo papas al 20 % en agua, pasando la parte sólida por un prensa-puré, y, después de tamizada, se reúne con el líquido. Se agrega 0,3 % de creta y se reparte con cuidado en tubos agitando fuertemente cada vez.

o) *Gelatina de mosto de malta*: Al mosto de malta preparado como en c), se agrega 15 % de gelatina, se arregla la reacción a pH 7, se clarifica con clara de huevo y se reparte en tubos como para punción.

Todos los medios de cultivo descriptos, se esterilizan a 120° C por 15 minutos, o mejor, en el caso, frecuente, de contener bastante azúcar, a 115° C por 20 minutos. Para los mostos conviene más la esterilización a 110° C por ½ hora y, finalmente, para la gelatina, la tinalización, por ½ hora cada vez.

3. *Aislamientos*: Los aislamientos pueden ser efectuados en tubos o en cajas de Petri; en el primer caso se logran obtener colonias a las 24 horas, y cultivos, a partir de las mismas, a las 48 horas, pero la seguridad de la pureza de los cultivos así obtenidos no es tan grande como con el método de las cajas. A continuación se describen, someramente, los detalles más importantes de ambos métodos.

a) *Aislamientos en tubos*: Para cada operación de aislamiento se emplean 5 ó 6 tubos con un medio de cultivo apropiado, solidificado con agar al 2 %. Los tubos, licuados en baño-maría y entibiados, se siembran, en diluciones sucesivas, comenzando con una o dos gotas de la suspensión original, y una vez enfriados, se incuban a 35°-37° C; al día siguiente, o a más tardar a los 2 días, se examinan para proceder al aislamiento de las colonias aparecidas, que se siembran en tubos conteniendo un medio líquido apropiado, provistos de tapón de vas-par, a los cuales, para mayor seguridad en el desarrollo de los cultivos, se agrega un poco de levadura viva, a objeto de asegurar la anaerobiosis.

b) *Aislamientos en cajas*: Se utiliza el método de siembra por estrías en superficie, efectuándose seis estrías sucesivas en cada caja, partiendo de un ansa de la suspensión original, que se deja secar antes de comenzar el estriamiento. Las cajas se secan previamente en estufa de 37° C, a objeto de obtener una desecación de la superficie del medio lo más completa posible.

Todas las cajas, reunidas en grupos de 10, se colocan en tarros de vidrio de boca ancha, (de unos 4 litros de capacidad) con avena remojada, para obtener condiciones de anaerobiosis. Finalmente, se cierra la tapa con plastilina y se lleva a incubar en estufa de 33°-35° C por 3-4 días, tiempo necesario y suficiente para la obtención de colonias bien desarrolladas, en su mayor parte conteniendo bacterias ya esporuladas.

Las colonias son estudiadas, con lentes de poco aumento, y luego transplantadas a tubos conteniendo un medio de cultivo favorable, con levadura viva y tapón de vas-par, como se ha mencionado anteriormente.

4. *Estudio de los cultivos puros*: Los cultivos obtenidos por el aislamiento de las colonias, en la forma que se acaba de indicar, fueron reunidos sistemáticamente, a objeto de formar una colección, con la idea de efectuar un estudio monográfico del grupo de fermentos butíricos y butílicos, en unión con otros cultivos, provenientes de distintos materiales.

Todos los cultivos aislados de material de lino enriado, y que demostraron poseer propiedades pectinolíticas, fueron incluidos en el presente trabajo. Para determinarlo, se efectuaron, con los mismos, las comprobaciones que a continuación se indican, dejando el estudio completo de todas sus características morfológicas, fisiológicas y de cultivo para una ocasión posterior.

a) *Morfología*: La determinación de la forma y disposición celular de los cultivos en estudio, fué hecha mediante preparaciones microscópicas directas, sin o con coloración. Generalmente, de las colonias aparecidas en las cajas, o tubos, se realizó una observación microscópica antes de efectuar los aislamientos, para comprobar las semejanzas o diferencias morfológicas que pudieran existir entre las colonias que se estaban aislando. Posteriormente, de los cultivos obtenidos en los tubos, se efectuó una nueva preparación directa, a fin de corroborar las características morfológicas ya observadas.

b) *Esporulación*: La capacidad de producir esporas y la observación de su forma y de la del esporangio, fué realizada también con material obtenido de las colonias aparecidas en las cajas de Petri e igualmente de los cultivos en los medios líquidos en que las mismas fueron sembradas al efectuar los aislamientos.

La observación de las formas esporuladas en el lino, se efectuó por el método de coloración ISF (iodo-sulfúrico-formol) descrito por Butterworth.

Además, el calentamiento de los cultivos sembrados, a 75 u 80°C durante 10 minutos, al efectuar los trasplantes, se interpretó, en el caso de obtenerse desarrollo, como un indicio seguro de la presencia de esporas.

c) *Movilidad*: Ocasionalmente, la movilidad de las células fué notada al efectuar las observaciones morfológicas con el material de las colonias, pero en general se comprobó en los cultivos hechos en los medios líquidos en tubos, con o sin levadura viva, provistos de tapón de vas-par.

d) *Colonias*. La forma y demás características de las colonias en superficie fué estudiado en cajas de Petri, sembradas en estrías sucesivas, como se mencionó anteriormente. Las colonias en profundidad fueron obtenidas en tubos de ensayo comunes, con agar, sembrados por dilución.

La formación de colonias con bordes bien limitados, en superficie, fué obtenida, a pesar de la excesiva humedad existente en los recipientes de incubación en anaerobiosis, mediante el uso de trozos de papel secante previamente mojados con  $\text{CaCl}_2$  y secados.

e) *Cromogenesis*: La propiedad de formar pigmentos coloreados en los cultivos fué observada en las colonias en cajas de Petri, empleando medios con agar adicionados de creta, que parece favorecer la cromogenesis.

También se observó la formación de pigmento en tubos de puré de papa con creta, preparados con tapón de vas-par para asegurar la anaerobiosis.

f) *Pectinolisis*: La capacidad pectinilítica fué comprobada de diversas maneras, sembrando e incubando por unos días, tubos con agua de levadura diluída 1|10 ó 1|5, conteniendo, además: 1) trozos de lino, observando la separación o ablandamiento de los tejidos; 2) trozos de zanahoria, observando la desintegración o ablandamiento de los tejidos; 3) trozos de lino y un trocito de zanahoria, observando, a las 24-48 horas, la desintegración, y a los 5-6 días, el ablandamiento de la zanahoria. Los trozos de lino, en el último medio citado, fueron colocados a objeto de obtener una buena esporulación de los cultivos en estudio.

g) *Proteolisis*: La propiedad de utilizar proteínas nativas, que parece ser una cualidad común a todas las bacterias enriadoras, fué estudiada por la licuación de la gelatina, utilizando tubos de gelatina (al 15 %) de mosto de malta diluído  $\frac{1}{2}$  provistos de tapón de vas-par; en ocasiones se utilizaron también tubos sin vas-par, introduciéndolos, en ese caso, en tarros con avena remojada, para obtener la anaerobiosis. Al cabo de unos 5-6 días de incubación, los tubos se colocan en tarros con trozos de

hielo, o se dejan por unas horas en la heladera, observando luego la incapacidad de volver a solidificarse, que se produce en el caso de haber sido atacada la gelatina.

El conjunto de las observaciones efectuadas, de la manera que se acaba de describir, permitió, en general, identificar las formas de las bacterias en estudio que se encuentran activas en el proceso natural de enriamiento del lino, tal como se efectúa en la industria, por el método de sumersión en agua, es decir, en condiciones prevalentemente anaeróbicas.

En todos los casos en que no se pudo llegar a la identificación de las formas bacterianas aisladas, se efectuaron otras determinaciones necesarias, como: fermentación de azúcares, reducción de colorantes, comportamiento en diversos medios líquidos y sólidos, etc., hasta lograr, al menos, una identificación probable de todos los cultivos incluidos en el trabajo.

### III — INVESTIGACIONES

El presente trabajo fué comenzado en junio de 1945, continuado durante los años 1947 y 1948, y terminado en Abril de 1949. En el curso del mismo se efectuó el estudio bacteriológico de 30 muestras de linos enriados, 24 de las cuales corresponden a materiales de establecimientos industriales situados en el país y en el extranjero y las 6 restantes a linos enriados en ensayos semi-industriales efectuados en dos reparticiones nacionales.

El aislamiento de los microorganismos predominantes, dotados de actividad enriadora, fué efectuado, preferentemente, en forma directa, al principio, en las experiencias de 1945, por el método de dilución en tubos, usando diversos medios de cultivo solidificados con agar al 2 %, y luego por el método de las cajas de Petri, sembradas en estrías, en superficie. En algunos casos, se ensayaron también algunos métodos de enriquecimiento, sembrando el material original en medios de cultivo líquidos, con diversos agregados, especialmente en medios con trozos de lino o de zanahoria, esterilizados, prosiguiendo, luego, con el aislamiento de las formas enriquecidas en el material enriado.

De esa manera, se realizaron 26 análisis directos y 5 por enriquecimiento, es decir, 31 análisis microbiológicos de las 24 muestras provenientes de establecimientos industriales, 18 de las cuales corresponden a linos enriados en el país, y 6 en el extranjero, y 9 análisis directos, y uno por enriquecimiento, o sea otros 10 más, de las 6 muestras de linos enriados en ensayos semi-industriales, efectuados en el país.

En total, con las 30 muestras de materiales estudiados, se hicieron

41 análisis microbiológicos, con el objeto de tratar de identificar la o las especies de bacterias anaerobias a las cuales pueda atribuirse la realización del proceso de enfriamiento del lino, en las condiciones en que se efectúa en la industria, por el método de inmersión en agua.

Los cultivos obtenidos en esa forma, fueron estudiados microscópicamente y, en caso necesario, convenientemente purificados mediante nuevos aislamientos por dilución en agar, después de lo cual se realizaron, con cada uno de ellos, las determinaciones del poder enriador, licuación de gelatina y el estudio somero de sus características morfológicas y de cultivo, a objeto de obtener, en lo posible, una rápida identificación específica.

A continuación, se detallan los materiales estudiados en este trabajo, agrupándolos de la manera que se ha indicado anteriormente.

A — *Linos enriados en establecimientos industriales:*

1) «*Linotex*» Nos. 1 a 10: Estas muestras provienen del establecimiento «*Linotex*», situado en el partido de Pergamino, Provincia de Buenos Aires. Los linos correspondientes fueron enriados en piletas, por el método de inmersión, en las cuales, cierta proporción del agua se elimina periódicamente, reemplazándola por nueva, hasta la terminación del proceso.

Las dos primeras muestras de esta serie fueron obtenidas y estudiadas en 1945 y corresponden a linos de dos piletas distintas, enriados por 3  $\frac{1}{2}$  días (enriamiento incompleto), y 4  $\frac{1}{2}$  días (enriamiento completo), respectivamente.

En 1947 se efectuó, nuevamente, el estudio microbiológico de las mismas muestras y los cultivos obtenidos fueron agregados a los anteriores. En uno y otro caso, se empleó el método de aislamiento directo por dilución, en tubos.

De la muestra *Linotex* N° 2, se efectuó también, en 1947, además del aislamiento directo, un enriquecimiento en tubos con agua de levadura y trozos de lino y con el mismo líquido y trozos de zanahoria, después de lo cual se prosiguió con el aislamiento por dilución en tubos de agar, de las bacterias enriquecidas en los medios nombrados.

Las restantes muestras, Nos. 3 a 10, del mismo origen, fueron obtenidas y estudiadas en 1947, empleándose, en el aislamiento de los cultivos correspondientes, el método de siembra directa en cajas de Petri, y utilizando, como medios de cultivo, agar de papa glucosado, agar de agua de levadura glucosada con creta y agar de mosto de malta diluido, con creta.

De la muestra *Linotex* N° 9, de igual manera que se hizo con la N° 2,

se efectuó también un enriquecimiento en un tubo de trozos de lino con agua de levadura, luego de lo cual el material tomado del lino enriado fué sembrado en cajas para proceder al aislamiento de las bacterias enriquecidas en el medio mencionado.

2) «*Linera*» Nos. 1 a 7: Estas muestras corresponden a linos enriados en el establecimiento «*Linera Bonaerense, S. A.*», situado en la estación Jáuregui, Prov. de Buenos Aires, también por el método de inmersión, pero en el cual el agua se hace correr lentamente, regulando su velocidad en forma apropiada, y suspendiéndola en el momento que se juzga oportuno, al final del proceso de enriamiento.

Los aislamientos fueron realizados en este caso por siembras en estrías en cajas de Petri, conteniendo agar de agua de levadura glucosada y creta, y agar de mosto de malta diluído también con creta.

3) *Tucumán*: Corresponde a un lino enriado en la provincia de Tucumán, obtenido por gentileza del Ing. Agr. Carlos V. Marciotte, quien comunicó a la vez las referencias recogidas en el lugar, de que los linos cultivados en la región, se opina que enrían muy bien. De esta muestra se efectuó un aislamiento directo por siembras en cajas de Petri, en estrías, y otro consecutivo a un ensayo de enriquecimiento hecho en tubos de lino con levadura, utilizando, en ambos casos, los dos medios de cultivo mencionados al final del tratamiento de las muestras anteriores.

4) *Río Lys (Bélgica N° 1)*: Esta muestra corresponde a un lino enriado en el río Lys (Bélgica), famoso lugar de enriamiento del lino, que fué posible obtener gracias a la gentileza del señor Julio Steverlynck, de la «*Linera Bonaerense, S. A.*» (1).

Por el interés especial que merecía esta muestra, debido a su origen, fueron efectuados aislamientos directos en cajas y en tubos, y además enriquecimientos en tubos con trozos de lino y de zanahoria, con sus aislamientos consecutivos correspondientes. Los medios de cultivo empleados en los aislamientos fueron los ya nombrados, con creta, y, además, el agar de papa glucosado para las cajas, y el agar de agua de levadura glucosado y agar de papa peptonado y glucosado, en ambos casos sin creta, para los tubos.

5) *Bélgica Nos. 2 y 3, Chile Nos. 1 y 2, y Holanda*: Todas estas muestras, de distinta proveniencia como está indicado, fueron obtenidas en

(1) El autor se complace en agradecer muy especialmente aquí al señor Steverlynck, por su extremada gentileza, al encargarse de hacerle remitir una muestra, por vía aérea, desde su lugar de origen, apenas le fué transmitido el deseo, por intermedio del Ing. Agr. H. Rubén Batalláñez, de obtener un lino auténticamente enriado en el río Lys. Dicha muestra fué recibida apenas una semana después de solicitada y pudo ser analizada de inmediato.

una visita realizada al establecimiento de tejidos «Lonalino», situado en San Martín, en las cercanías de la ciudad de Buenos Aires. Las fibras enriadas, fueron sacadas, separadamente, de los fardos originales, con suficientes precauciones como para evitar una mezcla de su contenido, usando cada vez un trozo de papel en el cual se envolvía de inmediato. En la preparación de la suspensión del material para sembrar se tuvo la precaución de cortar los trozos empleados, de la parte central del haz de fibras, con lo cual debe descartarse prácticamente, el peligro de una posible mezcla de la microflora existente en el material original, de procedencia tan diversa, como es el caso de las muestras que componen esta serie.

De todas estas muestras se hicieron aislamientos directos por estrías en cajas de agar de agua de levadura glucosada, y de agar de mosto de malta diluída, en ambos casos con creta, y además, de la muestra N° 20 (Bélgica N° 2), también enriquecimiento en tubo con agua de levadura y trozos de lino y zanahoria, y los aislamientos respectivos en cajas empleando el mismo método y medios de cultivo mencionados para las muestras restantes de la serie.

#### B — *Linos enriados en ensayos semi-industriales:*

1) *Pergamino Nos. 1 a 5:* Estas muestras fueron obtenidas de la Estación Experimental de Pergamino, perteneciente al Ministerio de Agricultura de la Nación. Su enriamiento fué efectuado en piletas de ensayo, por el método de inmersión, con renovación parcial y sucesiva del agua; en dichas piletas, dos años antes de la obtención, en 1945, de las dos primeras muestras, se hizo un ensayo de enriamiento con el agregado de cultivos de *Clostridium felsineum*<sup>1</sup>.

Posteriormente, las piletas fueron refaccionadas íntegramente, y las muestras Nos. 3 a 5 corresponden a ensayos de enriamientos hechos después de la ejecución de esas refacciones.

Las muestras Nos. 1 y 2 corresponden a linos enriados durante 60 y 120 hs., respectivamente, y fueron analizados en 1945 utilizando en los aislamientos el método de dilución en tubos con los medios de cultivo ya citados en el caso de las muestras Nos. 1 y 2 de Linotex, y luego fueron estudiadas de nuevo, por el mismo método en 1947. Las restantes muestras, Nos. 3 a 5, corresponden a linos tomados al término de su enriamiento, y en los aislamientos fué utilizado el método de las cajas sem-

(1) Esta operación fué realizada con la intervención del Prof. Ing°. Agr°. Luis A. Garassini, en esa época Jefe de Trabajos Prácticos de la Cátedra de Microbiología Agrícola de la Universidad Nacional de La Plata.

bradas en superficie con los medios de cultivo también mencionados en el caso de las demás muestras.

2) *Facultad*: Esta muestra corresponde a un ensayo de enriamiento de lino realizado en un tanque cilíndrico de cemento, instalado en el campo experimental de la Cátedra de Cultivos Industriales de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad de Buenos Aires.

El enriamiento fué considerado como casi llegado a su término a los 3 días en cuyo momento fué sacada la muestra para ser estudiada. De la misma se efectuó un aislamiento directo en cajas, por siembra del material en estrías, en superficie, y un enriquecimiento en un tubo de agua de levadura con trozos de lino y zanahoria, y el aislamiento posterior correspondiente en cajas. Los medios de cultivo empleados fueron iguales a los citados en las tres últimas muestras de Pergamino.

Como ya se ha referido anteriormente, el estudio microbiológico de las muestras Linotex y Pergamino, Nos. 1 y 2, realizado en 1945 y principios de 1947, se efectuó mediante el empleo del método de aislamiento por dilución en tubos, pero luego, y a medida que pudo ser resuelta la obtención de colonias bien formadas y no confluentes en la superficie del agar en cajas de Petri, este método fué empleado conjuntamente con el anterior, adoptándose, finalmente, el método de las cajas con los medios de cultivo ya mencionados, conteniendo creta, para todos los aislamientos posteriores.

#### IV — RESULTADOS

Los resultados obtenidos en las investigaciones relatadas en el capítulo anterior, se expondrán a continuación, separando también, como se hizo en el mismo, las experiencias efectuadas con los materiales estudiados provenientes de establecimientos industriales, de las que fueron hechas en los ensayos en escala semi-industrial.

##### A — *Linós enriados en establecimientos industriales*:

Debido a la particular modalidad del método de aislamiento utilizado al principio del trabajo, los resultados obtenidos en el estudio de las muestras Nos. 1 y 2 de Linotex, que fueron las primeras analizadas correspondientes a linos enriados, respectivamente, por 3  $\frac{1}{2}$  y 4  $\frac{1}{2}$  días, se darán por separado de las demás incluídas en este grupo.

En el estudio de esas dos primeras muestras, la diferencia de los tipos de microorganismos obtendios en los aislamientos se dificultó por la imposibilidad de establecer una fácil comparación entre las colonias desarrolladas y efectuar una rápida inspección morfológica de sus componen-

tes, antes de proceder al aislamiento de cada una de ellas, por cuyo motivo debió aislarse y cultivarse un número relativamente grande de colonias, para luego efectuar el estudio de los microorganismos resultantes.

El cuadro N° 1 resume los resultados obtenidos relativos al estudio realizado por aislamientos directos, de las mencionadas muestras Linotex Nos. 1 y 2.

CUADRO N° 1

Investigación de la presencia de bacterias anaerobias enriadoras en las muestras de lino enriado «Linotex» Nos. 1 y 2.

N°	Muestras	Ensayo N°	N° de colonias aisladas	N° de colonias enriadoras			% de colonias enriadoras
				anaranjadas	blancas	totales	
1	Linotex 1 (3 ½ días)	1	7	0	1	1	14 %
		2	22	0	1	1	5 %
2	Linotex 2 (4 ½ días)	1	21	0	0	0	0 %
		2	22	2	1	3	14 %

Como puede observarse en el cuadro, de la muestra Linotex N° 1 se aislaron 7 colonias sospechosas en el primer análisis hecho en 1945 y 22 en un segundo análisis hecho en 1947, de las cuales, sólo dos colonias, una cada vez, resultaron corresponder a bacterias capaces de producir el enriamiento del lino, cuando fueron probadas en cultivo puro. En ambos casos, los cultivos parecían corresponder a *Clostridium felsineum*, aunque no formaron el color anaranjado, característico de esa especie.

De la muestra Linotex N° 2, se hicieron también dos análisis: el primero en 1945, en que se aislaron 21 colonias sospechosas, ninguna de las cuales demostró poseer propiedades enriadoras, y otro en 1947, en que fueron aisladas 22 colonias, de las cuales 3 resultaron enriadoras. De éstas, 2 presentaban el color anaranjado típico del *Cl. felsineum* y la tercera, si bien semejante en un todo a las otras, era apigmentada.

De la misma muestra N° 2 se efectuaron también en 1947, cultivos de enriquecimiento en trozos de lino con levadura y en trozos de zanahoria; de los tubos de lino no se logró aislar enriadores, pero sí de los de zanahoria, en que se recobraron, por aislamiento en tubos, dos colonias algodonosas, rosadas.

El resultado del estudio de todas las muestras correspondientes a este grupo formado por linos enriados en establecimientos industriales, ha sido reunido, en forma sintética en el cuadro N° 2, en el cual se incluye también el resumen de los resultados obtenidos con las muestras Nos. 1 y 2 que se acaban de exponer.

Según puede observarse en el cuadro N° 2, aparte de lo que se refiere a las muestras Linotex Nos. 1 y 2 que han sido consideradas en el cuadro anterior, sólo 3 de las 22 muestras restantes, incluidas en este cuadro, dieron un resultado negativo al ser probadas, por el método de aislamiento directo en cajas, respecto de la presencia de bacterias anaerobias esporuladas enriadoras. Todas las colonias aisladas provenientes de las cajas

CUADRO N° 2

Investigación de la presencia de bacterias anaerobias enriadoras en las muestras de linos enriados en establecimientos industriales

N°	Muestras	Ensayo N°	Método de aislamiento	Presencia de enriadores	Observaciones
1	Linotex 1	1	Directo tubos	+	Sólo una colonia blanca.
	» »	2	» »	+	» » » »
2	» 2	1	» »	—	Ninguna colonia enriadores
	» »	2	» »	+	Dos cols. anaranj. y 1 blanc.
	» »	3	Enriquecimiento	+	Algunas colonias anaranj.
3	» 3	1	Directo cajas	+	» » »
4	» 4	1	» »	+	» » »
5	» 5	1	» »	—	Ninguna colonia enriadores.
6	» 6	1	» »	—	» » »
7	» 7	1	» »	+++	Casi puro fels. anaranj. y blanc.
8	» 8	1	» »	++	Colonias anaranj. y blancas
9	» 9	1	» »	—	Ninguna colonia enriadores
	» »	2	Enriquecimiento	+	Algunas colonias anaranj.
10	» 10	1	Directo cajas	+	» » »
11	Línera Bon. 1	1	Directo cajas	+++	Casi puro fels. anar. y blanc.
12	» » 2	1	» »	+++	» » » » » »
13	» » 3	1	» »	+++	» » » » » »
14	» » 4	1	» »	+++	» » » » » »
15	» » 5	1	» »	+++	» » » » » »
16	» » 6	1	» »	+++	» » » » » »
17	» » 7	1	» »	+++	» » » » » »
18	Tucumán	1	Directo cajas	+++	Casi puro fels. anar. y blanc.
	»	2	Enriquecimiento	+++	Colonias anaranj. y blancas
19	Río Lys (Bélg. 1)	1	Directo cajas	+++	Predom. fels. anaranj. y blanc.
	Río Lys (Bélg. 1)	2	Enriquecimiento	++	Algunas colonias anaranj.
20	Bélgica 2	1	Directo cajas	+++	Casi puro fels. anaranj.
	»	2	Enriquecimiento	++	Colonias anaranj. y blancas
21	Bélgica 3	1	Directo cajas	+++	Colonias anaranj. y blancas
22	Chile 1	1	Directo cajas	+++	Casi puro fels. blanco
23	Chile 2	1	» »	+	Algunas colonias anaranj.
24	Holanda	1	Directo cajas	++	Colonias anaranj. y blancas

sembradas con los materiales Linotex Nos. 5, 6 y 9, demostraron no poseer capacidad enriadora alguna, al ser examinadas a este respecto.

De estas tres muestras negativas, la última (o sea la N° 9), fué investigada de nuevo, utilizando, esta vez, un método de enriquecimiento en un medio de cultivo favorable al desarrollo de bacterias enriadoras, sembrando el material en un tubo de trozos de lino y zanahoria, con agua de levadura y creta, provisto de tapón de vas-par para asegurar la anaerobiosis. La siembra posterior del material microbiano desarrollado, efectuado, como antes, en cajas de Petri, pudo poner de manifiesto que se había producido, en esta forma, un enriquecimiento de bacterias enriadoras, en número tal, que permitió su reconocimiento y aislamiento inmediato.

No se consideró necesario, en ese tiempo, someter las otras dos muestras al mismo procedimiento, siguiéndose con el examen analítico directo de las demás muestras.

Con respecto a las otras muestras de la misma proveniencia, se ha encontrado que la Linotex N° 7, ha dado en las cajas un desarrollo abundante de *Clostridium felsineum* con las características de un cultivo prácticamente puro, mientras que las restantes (Nos. 3, 4, 8, 10), si bien demostraron contener también la mencionada especie bacteriana enriadora, no se encontró en las mismas en tal cantidad.

Las muestras provenientes de la «Lina Bonaerense, S. A.», resultaron contener, todas, el *Clostridium felsineum*, en cultivo prácticamente puro y como única especie enriadora, hecho que indica un indudable predominio de esta especie en el lugar de origen. A este respecto, es interesante consignar la circunstancia de que parte del agua de las piletas de enriamiento proviene, en ese lugar, de un arroyo donde se vuelca el líquido final de cada operación, de modo tal que su utilización posterior en un nuevo enriamiento, constituye en realidad, una siembra hecha con material de la operación anterior, con lo cual debe haberse producido, al cabo de un tiempo, un verdadero enriquecimiento de las bacterias enriadoras.

Las otras muestras, provenientes de Tucumán, Chile, Bélgica y Holanda, también mostraron contener la nombrada especie, destacándose, por la abundancia del desarrollo en que la misma apareció en las cajas correspondientes y el color de las colonias. En la muestra designada como Bélgica N° 1 (muestra N° 19 del cuadro) se encontró dicha bacteria en cultivo netamente predominante.

Este resultado adquiere una importancia muy especial si se considera el hecho de que la muestra en cuestión corresponde a un lino enriado en

el río Lys, famoso por la excelencia del producto enriado en sus aguas, a las que se atribuye una propiedad excepcional en tal sentido.

Además dieron un desarrollo casi puro de *Cl. felsineum*, la muestra de Tucumán, las otras dos de Bélgica y una de las de Chile.

B — *Linos enriados en ensayos semi-industriales:*

Al igual que con las muestras Nos. 1 y 2 de Linotex, referidas anteriormente, las muestras Pergamino Nos. 1 y 2, correspondiente a linos enriados por 60 hs. y 120 hs. respectivamente, fueron también estudiadas en 1945 utilizando el método de aislamiento por dilución en tubos, usando los medios de cultivo ya citados en esa ocasión.

En el cuadro N° 3, se exponen los resultados obtenidos con las dos muestras mencionadas.

CUADRO N° 3

Investigación de la presencia de bacterias anaerobias enriadoras en las muestras de lino enriado «Pergamino» Nos. 1 y 2.

N°	Muestras	Ensayo N°	N° de colonias aisladas	N° de colonias enriadoras			% de colonias enriadoras
				anaranjadas	blancas	totales	
1	Pergamino 1 (60 hs.)	1	10	1	1	2	20 %
		2	17	6	3	9	53 %
2	Pergamino 2 (120 hs.)	1	50	10	5	15	30 %
		2	21	2	6	8	38 %

De acuerdo con las cifras consignadas en el cuadro, de la muestra Pergamino N° 1 enriada por 60 hs., se aislaron en total 27 colonias, de las cuales 11 resultaron enriadoras, 7 de ellas con el color anaranjado típico del *Cl. felsineum* y 4 incoloras, pero, por otra parte, del todo semejantes a las coloreadas. De la muestra Pergamino N° 2, enriada por 120 hs. fueron aisladas en total 71 colonias, de las que 23 resultaron enriadoras, 12 de las cuales correspondieron a típicas colonias anaranjadas de *Cl. felsineum* y 11 a colonias de la forma incolora.

El cuadro N° 4, que se incluye a continuación, reúne los resultados obtenidos con las 6 muestras analizadas, correspondientes al grupo de los linos enriados en ensayos semi-industriales, incluyéndose en el mismo, también, el resumen de las dos muestras de Pergamino cuyo detalle se ha dado en el cuadro anterior.

Según puede apreciarse en el cuadro N° 4, aparte de las muestras Pergamino Nos. 1 y 2, cuyos resultados fueron ya comentados en el cuadro N° 3, las restantes muestras (Nos. 3, 4 y 5) de Pergamino, dieron un resultado positivo, encontrándose colonias de *Clostridium felsineum* en todas, especialmente en la muestra N° 5 en que esta bacteria apareció prácticamente con el aspecto de un cultivo puro, aunque incoloro.

CUADRO N° 4

Investigación de la presencia de bacterias anaerobias enriadoras en las muestras de linos enriados en ensayos semi-industriales.

N°	Muestras	Ensayo N°	Método de aislamiento	Presencia de enriadores	Observaciones
1	Pergamino 1	1	Directo tubos	+	Colonias anaranj. y blancas
	»	2	» »	++	Predominan colonias anaranj.
2	Pergamino 2	1	» »	++	» »
	»	2	» »	++	Predominan colonias blancas
3	Pergamino 3	1	Directo cajas	+	Pocas colonias algo anaranj.
4	Pergamino 4	1	» »	+	» » » »
5	Pergamino 5	1	» »	+++	Cult. casi puro fels. blanco
6	Facultad	1	Directo cajas	—	Ninguna colonia enriadora
	»	2	» »	+	Algunas colonias anaranjadas
	»	3	Enriquecimiento	++	Varias colonias coloreadas

Finalmente, el análisis de la muestra designada como «Facultad», demostró contener la bacteria enriadora solamente en muy limitada cantidad, puesto que sólo en un segundo aislamiento directo, reiterado después de haber fracasado el primero, se logró poner de manifiesto su presencia de una manera indudable. Un ensayo de enriquecimiento posterior, efectuado en tubos con lino y zanahoria esterilizados, y el aislamiento respectivo consiguiente puso, además, en evidencia el contenido de *Clostridium felsineum* también en ese material enriado.

En el cuadro N° 5 se han resumido todos los resultados obtenidos en el estudio de las 30 muestras analizadas en el presente trabajo, provenientes de los linos enriados en la industria y en los ensayos semi-industriales a que ya se ha hecho referencia anteriormente, en los cuadros Nos. 2 y 4.

Como puede apreciarse por las cifras consignadas, 21 de las 24 muestras correspondientes al primer grupo, y la totalidad de las 6 muestras correspondientes al segundo, dieron resultado positivo cuando fueron estudiadas por la siembra directa del material original en los medios de cultivo empleados para los aislamientos.

De las tres muestras que dieron resultado negativo por esos métodos, una sola fué analizada de nuevo, posteriormente, mediante un ensayo de enriquecimiento en tubos de lino esterilizado, con trozos de zanahoria y agua de levadura, luego de lo cual se obtuvo un resultado positivo respecto de la presencia de enriadores en los aislamientos respectivos, efectuados con dicho material, una vez fermentado.

Se estudiaron, además, por enriquecimiento, otras cuatro muestras de linos del primer grupo y una del segundo, que ya habían sido anali-

CUADRO N° 5

Número total de las muestras de lino estudiadas en el trabajo, por aislamiento directo y por enriquecimiento y resultados obtenidos respecto de la presencia de bacterias anaerobias enriadoras.

Grupos	Forma de enriamiento	Aislamiento directo		Enriquecimiento		Totales	
		analizados	positivos	analizados	positivos	analizados	positivos
1	Linós enriados en establec. industriales	24	21	(4) + 1	5	24	22
2	Linós enriados en ensayos semiindustriales	6	6	(1)	1	6	6
Total general		30	27	(5) + 1	6	30	28

Las cifras entre paréntesis se refieren a muestras ya analizadas por aislamiento directo con resultado positivo.

zadas, con resultado positivo, por aislamiento directo. Los aislamientos correspondientes a estas muestras, realizados con los medios enriquecidos, dieron también en todos los casos, un resultado confirmatorio del anterior.

Las únicas dos muestras que en el presente trabajo no dieron un resultado positivo, fueron analizadas solamente por siembra directa de material original en los medios de aislamiento, de igual manera que el resto de las muestras estudiadas. No se hizo con ellas un ensayo de enriquecimiento, que sólo fué efectuado con la otra muestra que también dió resultado negativo por aislamiento directo, con un resultado favorable después del enriquecimiento, como ya se relató con anterioridad.

No obstante esto último, el número de muestras en que se logró demostrar la presencia de bacterias anaerobias enriadoras y la constancia de las formas bacterianas obtenidas, se consideró suficiente, como para permitir arribar a las conclusiones que se derivan del trabajo, indicadas

a continuación, no justificándose una reiniciación del estudio de las muestras mencionadas, puesto que no se obtendría otra cosa, en el mejor de los casos, que una confirmación del comportamiento análogo al de la muestra anteriormente aludida.

## V — COMENTARIOS

La comparación de los métodos de aislamiento empleados en este trabajo, así como de los diversos medios de cultivo utilizado en dicha operación, permitió poner en evidencia la superioridad del uso de las cajas de Petri, sembradas por estrías, en superficie, con material previamente pasteurizado. La diferenciación de las colonias pudo hacerse, en esa forma, con mucha mayor facilidad que utilizando el método de aislamiento por dilución en tubos, y el procedimiento de identificación de los cultivos se simplificó sobremanera.

Los medios de cultivo que dieron mejor resultado para los aislamientos en cajas fueron: el agar de agua de levadura glucosada al 2 % con 1 % de creta, el agar de mosto de malta diluída a 2° Brix, con 2 % de creta, y el agar de papa glucosado al 2 %, con 1 % de peptona y 1 % de creta.

Para los aislamientos en tubos, se obtuvieron igualmente buenos resultados con el agar de agua de levadura glucosada, el agar de papa peptonado y glucosado y el agar de hígado glucosado, prefiriéndose el primero por su mayor transparencia y facilidad de preparación.

La determinación de la capacidad de producir enriamiento por los cultivos bacterianos aislados, significó una tarea extensa y delicada no sólo por el número de cultivos distintos (más de 500) que debió manejarse durante el curso del trabajo, sino también porque de la eficacia del método empleado podía depender la decisión definitiva que debía tomarse respecto de esa importante propiedad.

Luego de ensayar diversos métodos y medios de cultivo, todos los cuales se basan en la manifestación de la propiedad pectinolítica por los cultivos en estudio, se llegó al desarrollo de un método suficientemente simple y práctico, consistente en el uso del medio de cultivo de lino con zanahoria y levadura detallado en otra parte del trabajo, en el cual, a las 24-48 horas pueden reconocerse, con facilidad, las bacterias fuertemente enriadoras y a los 5-8 días las enriadoras débiles y no enriadoras, como ya se ha mencionado anteriormente. En este medio se ha logrado, también, obtener una esporulación satisfactoria de todos los cultivos de bacterias estudiados en el trabajo, varios de los cuales no han producido esporas, sino con dificultad, en otros medios de cultivo conocidos.

La aparición de colonias blancas, observadas primero en los tubos de aislamiento, las que parecían corresponder a *Clostridium felsineum* por el resto de sus características, salvo la falta de coloración anaranjada, planteó, en un principio, la sospecha de que podría tratarse del *Clostridium (Granulobacter) pectinovorum* de Beijerinck y van Delden, para el cual los autores citados, y otros, no mencionan la formación de pigmento alguno. Esta sospecha se acentuó posteriormente cuando, al emplear el método de las cajas sembradas en superficie, se dispuso de una posibilidad de fácil observación de otros caracteres, como el aspecto de «moiré» de sus colonias, que se tiene como característico de esta especie, y la morfología de las células vegetativas y esporangios que las constituyen.

Por otra parte, las diversas formas y coloraciones de colonias y transiciones entre ellas, y las semejanzas que se han podido establecer entre los numerosos cultivos aislados, ha permitido formarse una idea posiblemente más exacta del límite específico del *Clostridium felsineum*, de modo que en atención a ese concepto, los cultivos de colonias incoloras (designados en las anotaciones como *felsineus* blanco) fueron considerados, finalmente, como pertenecientes a dicha especie.

De esa manera quedó, pues, en pie la cuestión referente a la presencia de la especie de Beijerinck en los linos enriados que, a juzgar por el categórico resultado de su trabajo magistral debe corresponder a la bacteria específica causante del enriamiento del lino. En tal sentido cabría adelantar la hipótesis de que el *Clostridium felsineum* de Carbone, (al menos las formas de colonias incoloras) no sería otra cosa que el *Clostridium (Granulobacter) pectinovorum* de Beijerinck y van Delden, descrito 13 años antes por los autores citados, cuestión que sólo puede ser resuelta apropiadamente, mediante una comparación directa de los cultivos originales, lo cual se tratará de realizar, si es posible, en una ocasión futura.

Respecto de este interesante asunto, cabe manifestar que la circunstancia de que los numerosos cultivos aislados en el curso del presente trabajo, que resultaron corresponder a la forma de *Clostridium amylobacter l.* de Ruschmann, licuantes de la gelatina, y que, probados con el método que aquí se describe, fueron clasificados, invariablemente, como enriadores débiles, difícilmente puede conciliarse con la manifestación de los autores holandeses que asignan a su bacteria un fuerte poder enriador, y con su reconocimiento como la bacteria específica del enriamiento del lino. La hipótesis aquí planteada podría representar, en el caso de confirmarse, una solución satisfactoria del problema.

El aislamiento de dos cultivos con ciertas características diferenciales

típicas, efectuado en dos ocasiones, durante el desarrollo del trabajo, con un material proveniente de un lino enriado en el país (Tucumán) y otro enriado en el extranjero (Río Lys), aunque en escasa cantidad respecto de los cultivos de *Clostridium felsineum*, también encontrado en ambos casos planteó, igualmente, un problema de sistemática dentro del grupo de las bacterias anaerobias esporuladas enriadoras, cuya solución se ha dejado para más adelante, cuando se espera efectuar el estudio sistemático detallado de todos los cultivos de fermentos butíricos y butílicos que se han reunido, correspondientes a éste y a otros trabajos similares en que se han encontrado bacterias de este grupo.

No obstante, corresponde adelantar que la forma de los cultivos aludidos, a la que se denominó provisionalmente «clostridio curvo», podría representar una variedad del *Clostridium felsineum* o constituir una nueva especie, indudablemente relacionada con ella, de la cual difiere por la forma de sus esporangios, en general, algo encurvados, y el color amarillo o herrumbre, así como el tamaño limitado y aspecto distinto, de su colonia.

Los resultados finales obtenidos en esta investigación, confirman la conclusión del trabajo de Orla-Jensen y Kluyver en el que se comunica que la bacteria enriadora encontrada en muestras de lino enriados en establecimientos industriales de Holanda, resultó ser el *Clostridium felsineum*.

El citado trabajo conjuntamente con el actual constituyen, pues, una corroboración experimental del punto de vista sostenido por Carbone, durante muchos años en Italia, de que la bacteria por él descubierta sería la única forma realmente activa del enriamiento del cáñamo y del lino, llegando, por su parte, hasta a considerar que ella es también la única bacteria que se comporta como verdaderamente enriadora, mientras que las demás, tan sólo llegan a actuar como pseudo-enriadoras.

En abierta contradicción con ésta está la opinión de Ruschmann y colaboradores, en Alemania, quienes, si bien aceptan que el *Clostridium felsineum* es una bacteria capaz de manifestar, en cultivo puro, una potente actividad de enriamiento, no la manifiestan en los procesos de enriamiento natural, por cuanto queda desplazada, en esas condiciones, por las formas de «*Amylobacter*» enriadoras, licuantes de la gelatina.

Los resultados del presente trabajo, no están en favor de la tesis sostenida por los autores alemanes, puesto que, no sólo se pudo aislar reiteradamente y en forma directa, el *Clostridium felsineum* de numerosas muestras de linos enriados en establecimientos industriales, sino que también se consiguió el desarrollo de dicha bacteria, con otras formas de «*Amylobacter*», en los ensayos de enriquecimiento, que se efectuaron

en trozos de lino esterilizado o sin esterilizar, utilizando algunas de las muestras estudiadas en el curso de la investigación.

## VI — CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en las investigaciones efectuadas en el presente trabajo, permiten establecer las conclusiones siguientes:

1°. — De las 24 muestras estudiadas, correspondientes a linos enriados en establecimientos industriales por el método de sumersión en agua, en el país y en el extranjero, 21, o sea, casi el 90 %, dieron un resultado positivo, al ser examinados respecto de la presencia de bacterias anaerobias esporuladas enriadoras, por el método de la siembra directa de material en los medios de aislamiento.

2°. — La única muestra de lino enriado, de las tres que dieron resultado negativo en los aislamientos directos, en la que se ensayó, posteriormente, el aislamiento de las citadas bacterias enriadoras previo cultivo de enriquecimiento en medios favorables, dió un resultado positivo después de la mencionada operación.

3°. — La totalidad de las 6 muestras de linos enriados, provenientes de ensayos efectuados en escala semi-industrial, dieron un resultado positivo respecto de la presencia de las mismas bacterias, cuando se investigaron por el método de aislamiento directo.

4°. — En la mayor parte de las muestras estudiadas, y en unión con las colonias de color anaranjado, característicos del *Cl. felsineum*, aparecieron también colonias semejantes, pero incoloras o con distintas gradaciones menores del mencionado color, las cuales fueron consideradas como pertenecientes a la misma especie, no obstante la falta de ese carácter distintivo.

5°. — En dos de las muestras analizadas correspondientes al grupo de linos enriados en establecimientos industriales, una del país y otra del extranjero, apareció una forma de bacterias enriadoras caracterizada por sus clostridios algo encurvados y sus colonias pequeñas teñidas de color ocre-rojizo o amarillento, conjuntamente con el típico *Clostridium felsineum*.

6°. — En todas las muestras de linos enriados, analizadas en el presente trabajo, en las que se logró aislar bacterias anaerobias enriadoras, se encontró, en forma exclusiva o predominante, el *Clostridium felsineum* (Carbone) Donker.

## AGRADECIMIENTOS

El autor se complace en expresar aquí su agradecimiento, por la provisión del material y de las informaciones que se han utilizado en la confección del trabajo, a los colegas que se mencionan a continuación: Prof. Ing° Agr° Walter F. Kugler, Director de la Estación Experimental de Pergamino, Ministerio de Agricultura de la Nación; In° Agr° Ernesto F. Godoy, Subdirector de la misma institución; Ing° Agr° Carlos V. Marciotte, Encargado de la Sección Textiles, en el mismo lugar; Prof. Ing° Agr° José S. Isnardi, Encargado de Curso de la Cátedra de Cultivos Industriales, en la Facultad de Agronomía y Veterinaria de Buenos Aires; Prof. Ing° Agr° Carlos Remussi, Encargado del curso de Lino, en la citada Cátedra; Ing° Agr° H. Rubén Battallánez, Director Técnico de la «Linera Bonaerense», S. A.; Ing° Agr° Carlos M. Liberatori, Director Técnico de «Linotex», S. A.

Al mismo tiempo, desea también dejar constancia de su gratitud a las autoridades de los establecimientos industriales visitados: «Linera Bonaerense», «Linotex» y «Lonalino», de donde han sido obtenidas la mayor parte de las muestras incluidas en la investigación.

## VII — RESUMEN

El trabajo trata de la investigación de bacterias anaerobias enriadoras, en muestras de linos enriados en establecimientos industriales de la Argentina, Chile, Bélgica y Holanda, por el método de sumersión bajo agua, a las que se agregan algunas muestras de linos enriados, por el mismo procedimiento, en escala semi-industrial.

De las 30 muestras analizadas, 24 correspondientes a establecimientos industriales y 6 a ensayos semi-industriales, fué posible demostrar la presencia de bacterias anaerobias enriadoras en 27, por un método de aislamiento directo, y en otra por un método de enriquecimiento, lo que hace un total de 28 muestras positivas, equivalentes a más del 90 % de las estudiadas.

En la totalidad de los casos en que se estableció la presencia de bacterias anaerobias esporuladas, capaces de producir enriamiento en cultivo puro, la especie aislada, generalmente, como enriadora única y excepcionalmente en unión con otras, resultó ser el *Clostridium felsineum* (Carbone) Donker, por lo que cabría considerar a dicha especie como la bacteria activa en el enriamiento industrial del lino.

La circunstancia de que una de las muestras estudiadas, proveniente del río Lys, famoso por la bondad del producto enriado en sus aguas,

contenía la citada bacteria en proporción netamente predominante sobre el resto de su microflora, constituye un sólido apoyo en favor de la anterior opinión.

#### S U M M A R Y

The work deals with the investigation of retting anaerobic bacteria, in samples of flax retted in industrial establishments of Argentina, Chile, Belgium and Holland through the method of submersion in water; to these are added some samples of retted flax, by the same procedure, in a semiindustrial scale.

Of the thirty analyzed samples, 24 corresponding to industrial establishments and 6 to semi-industrial ones, it was possible to prove the presence of anaerobic retting bacteria in 27 through a method of direct isolation, and in another case by a method of enrichment, which makes a total of 28 positives equivalent to more than 90 % of the samples, studied.

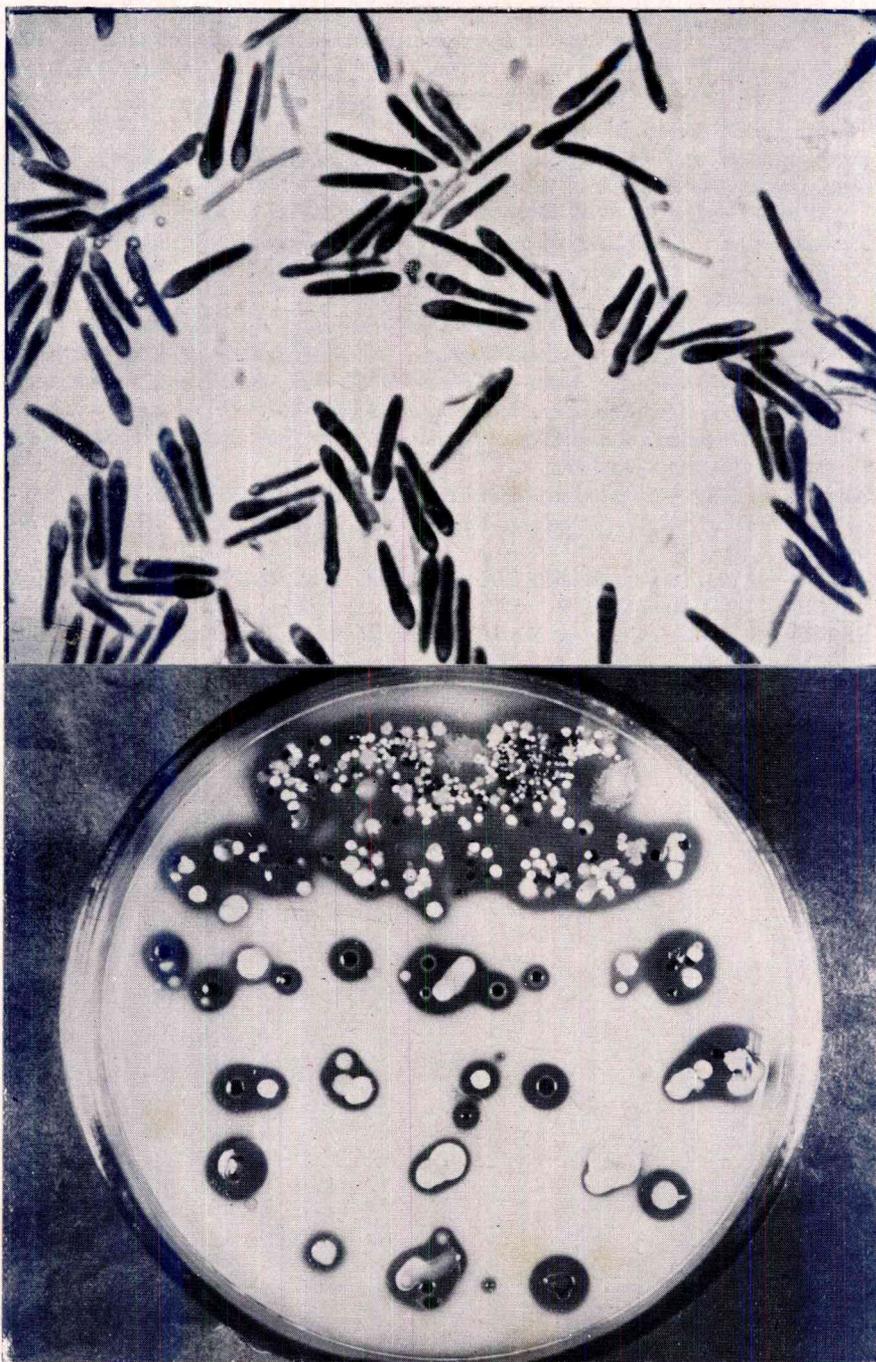
In the totality of the cases in which the presence of sporulated anaerobic bacteria, capable of producing retting in pure culture has been demonstrated, the isolated species, generally as the only retter and exceptionally with others, was the *Clostridium felsineum* (Carbone) Donker, for which reason this species has to be considered as the active bacteria in the industrial retting of flax.

The fact that one of the investigated samples, coming from the Lys river, which is famous for the bounty of the product retted in its waters, contained the above cited bacteria in a clearly dominant proportion from the rest of its microflora constitutes a solid support in favour of the former opinion.

#### VIII — BIBLIOGRAFIA

- ANÓNIMO. 1938-1945 — *The Flax Development Committee. First to Sixth Interim Reports.* 347 pp., 37 pl. Ed.: Bell and Hogan Ld. Belfast, Ireland.
- BEHRENS, J., 1902 — *Untersuchungen über die Gewinnung der Hanffaser durch natürliche rostmethoden.* Centralbl. f. Bakt. II Abt. 8:114.
- BEIJERINCK, M. W., AND A. VAN DELDEN, 1904 — *On the bacteria which are active in flaxretting.* Koninklijke Akademie van Wetenschappen te Amsterdam. Proceedings of the Section of Sciences, 6:462-481.
- BUTTERWORT, E. — 1945. — *Report of the year's work presented to the Flax Development Committee.* Sixth Interim Report, pp. 48-124. (Ver: Anónimo).
- CARBONE, D. 1926 — *La macerazione industriale delle piante tessili col Bacillus felsineus.* 2a. ed. Ed.: Istit. Sieroterapico Milanese, Milano.

- CARBONE, D., e TOMBOLATO. 1917 — *Sulla macerazione rustica della canapa*. Le Staz. Speriment. Agrar. Ital., 50: 563.
- HENNEBERG, W. 1926 — *Handbuch der Gärungsbakteriologie*. Verlag: P. Parey, Berlin.
- ORLA-JENSEN, ANNA D., UND A. J. KLUYVER. 1939 — *Notiz über den Erreger der Warmwasserflachsrost in Holland*. Zentralbl. f. Bakt. II Abt. 101: 257-261.
- RUSCHMANN, G. UND W. BAVENDAMM. 1925 — *Zur Kenntnis der Rosterreger Bac. felsineus* CARBONE UND *Plectridium pectinovorum* (Bac. amylobacter A. M. et Bredemann). Zentralbl. f. Bakt. II Abt. 64:340.
- 1925 — *Die Flachsrost mit Plectridium pectinovorum* (Bac. amylobacter A. M. et Bredemann) und *Bac. felsineus* Carbone. Zentralbl. f. Bakt. II Abt. 65:43.
- SORDELLI, A. y S. SORIANO. 1928 — *Aislamiento del Bac. felsineus y su existencia en la República Argentina*. Rev. Soc. Arg. Biol. 4:611-617.
- 1930 — *Aislamiento y caracteres de Bacillus felsineus*. Rev. Inst. Bact. Dep. Nac. Hig. 5:725-740. 4 láminas.
- SORIANO, S. 1929 — *Estudios sobre un bacilo anaerobio enriador del lino*. Tomo conmemorat. 25 anivers. fundación Facultad Agr. y Vet. Univ. Bs. Aires, pp. 279-300. 5 figs.
- 1930 — *Nuevo bacilo anaerobio enriador del lino*. Rev. Inst. Bact. Dep. Nac. Hig. 5:741-756. 3 láminas.
- STORMER, K. 1904 — *Ueber die Wasserrost des Flacheses*. Zentralbl. f. Bakt. II Abt. 13:35.
- WINOGRADSKY, S. et V. FRIBES. 1895 — *Sur le roissage du lin et son agent microbien*. Compt. Rend. Acad. Scs. pp. 121-242.



*Explicación de la lámina: Arriba: Formas de «plectridios» en un cultivo de enriquecimiento en lino. Coloración con el método ISF (Iodo-Sulfúrico-Formol) (Aumento: x 2000). Abajo: Colonias en una caja de Petri sembrada con material de lino enriado (Tamaño natural). (Las colonias que en la fotografía aparecen con centro obscuro son en realidad anaranjadas, y corresponden al típico *Clostridium felsineum*).*

## Segunda contribución al estudio de la bionomía del *Argas persicus*

POR EL DR. RODOLFO J. ROVEDA (\*)

---

Desde el año 1937 —en este Instituto— se realizan observaciones, respecto a la biología del *Argas persicus* Oken 1818.

Publicamos en el año 1940, nuestra «Primera contribución al estudio de la bionomía del *Argas persicus*» (1) en ella nos ocupábamos de huevos y larvas, en ésta de ninfas y adultos. Ahora como entonces, trabajamos con ejemplares remitidos de diversas regiones del país, y, cuando las necesidades lo requieren, con los criados en nuestro Instituto.

En lo que respecta a antecedentes bibliográficos, consideramos muy interesante el trabajo de Rohr (2).

El parásito en cuestión, se encuentra muy difundido en la República Argentina, la zona Patagónica es una de las que hace excepción. Comprueba su presencia por primera vez el Dr. Alfredo Luzio en el año 1914 (3) y hasta el presente continúa aumentando; entonces sólo preocupaba en su carácter de garrapata, creyendo que el espiroquete transmitido corrientemente en los Estados Unidos del Brasil, aquí no podía existir por razones climáticas, etc, etc. Sin embargo, el Dr. Félix Ricardo Jurado lo comprueba en el año 1940 (4), desde entonces hasta nuestros días el *Spirochaeta anserina* Sakharoff es observado con cierta frecuencia y considerado como agente etiológico de la espiroquetosis aviar. De manera entonces, que ha llegado el momento de preocuparnos tanto el *Argas persicus* cuanto más por el *Spirochaeta anserina* que inocular. Por lo tanto la destrucción de la garrapata significa también la muerte del parásito que puede transmitir.

(\*) Profesor adjunto de Parasitología y Enfermedades Parasitarias.

La lucha contra este Argasineo es muy difícil, goza de gran resistencia a diferentes medios aún en estado de inanición, probar esta resistencia, es el motivo principal de nuestro trabajo. Estos parásitos huyen de la luz, escondiéndose durante el día en estrechas rendijas, donde evita fácilmente que se le combata. Abandona sólo sus escondites para alimentarse —durante la noche, en sus dos estados ninfales y de adulto— con intervalos frecuentes en el verano, por ser ésta la época de mayor actividad vital. En el invierno la garrapata y el espiroquete viven en estado latente.

En los estados ninfales y adulto presentan mayor resistencia que en el estado larval, las observaciones respectivas nos permiten determinar algunas leyes de su vida, considerándolas útiles para la profilaxis. La resistencia vital depende principalmente de los factores ambientales, siendo los más importantes la temperatura y la humedad. Hemos hecho actuar estos dos factores en 75 lotes de 1° ninfas con un total de 3855 ejemplares —en 75 lotes de 2° ninfas con un total de 3750 ejemplares— en 75 lotes de adultos con un total de 3660 ejemplares, y, como complemento de estos últimos 30 parejas (machos y hembras) las que sometemos también a la acción de los factores ambientales citados; las parejas nos permiten observaciones interesantes que dejamos consignadas como complemento de su resistencia ambiental, como ser su apareamiento, aove, etc.

Por razones de espacio suprimimos los protocolos —largos y numerosos (255)— pasando inmediatamente a la descripción del resumen de las experiencias realizadas, dividido en cuatro capítulos: I) Resistencia a la inanición de ninfas 1° estado de *Argas persicus* Oken 1818. II) Resistencia a la inanición de ninfas 2° estado de *Argas persicus*. III) Resistencia a la inanición de adultos de *Argas persicus*. IV) Parejas-machos y hembras— de *Argas persicus*.

## RESUMEN DE LAS EXPERIENCIAS REALIZADAS

### CAPÍTULO I

Resistencia a la inanición de 1° ninfas de *Argas persicus* Oken 1818.

A) Lotes sometidos a temperaturas de 20-26° C. y humedad relativa de 90-100 %

Resistencia		Máxima	290 días
		Mínima	125 »
		Media	195 »

B) Lotes sometidos a temperaturas de 32-33° C. y humedad relativa de 90-100 %

Resistencia	Máxima 190 días
	Mínima 110 »
	Media 160 »

C) Lotes sometidos a temperaturas de 37-38° C. y humedad relativa de 90-100 %.

Resistencia	Máxima 130 días
	Mínima 40 »
	Media 90 »

## CAPÍTULO II

Resistencia a la inanición de 2° ninfas de *Argas persicus* Oken 1818.

A) Lotes sometidos a temperaturas de 20-26° C. y humedad relativa de 90-100 %

Resistencia	Máxima 700 días
	Mínima 270 »
	Media 480 »

B) Lotes sometidos a temperatura de 32-33° C. y humedad relativa de 90-100 %

Resistencia	Máxima 250 días
	Mínima 82 »
	Media 160 »

C) Lotes sometidos a temperaturas de 37-38° C. y humedad relativa de 90-100 %

Resistencia	Máxima 180 días
	Mínima 75 »
	Media 120 »

## CAPÍTULO III

Resistencia a la inanición de adultos de *Argas persicus* Oken 1818

A) Lotes sometidos a temperaturas de 20-26° C. y humedad relativa de 90-100 %

Resistencia	Máxima 1120 días
	Mínima 85 »
	Media 640 »

B) Lotes sometidos a temperaturas de 32-33° C. y humedad relativa de 90-100 %

Resistencia	Máxima 698 días
	Mínima 264 »
	Media 481 »

C) Lotes sometidos a temperaturas de 37-38° C. y humedad relativa de 90-100 %

Resistencia	Máxima 305 días
	Mínima 65 »
	Media 180 »

#### CAPÍTULO IV

Parejas —machos y hembras— de *Argas persicus* Oken 1818.

A) Lotes sometidos a temperaturas de 20-26° C. y humedad relativa de 90-100 %

Resistencia machos	Máxima 1766 días
	Mínima 1070 »
	Media 1418 »

Resistencia hembras	Máxima 1927 días
	Mínima 1150 »
	Media 1536 »

Aove	Máximo 340 huevos	Número de aoves	Máximo 6
	Mínimo 148 »		Mínimo 3
	Medio 244 »		Medio 5

Número de cópulas	Máximo 8
	Mínimo 2
	Media 5

Número de succiones en machos	Máxima 4
	Mínima 1
	Media 3

Número de succiones en hembras	Máxima 8
	Mínima 3
	Media 6

Tiempo de succión de los machos	Máximo 55 minutos
	Mínimo 10 »
	Medio 35 »

Tiempo de succión de las hembras	Máximo 70 minutos
	Mínimo 10 »
	Medio 40 »

B) Lotes sometidos a temperaturas de 32-33° C. y humedad relativa de 90-100%

Resistencia de los machos	Máxima 1100 días		
	Mínima 210 »		
	Media 589 »		
Resistencia de las hembras	Máxima 1147 días		
	Mínima 347 »		
	Media 775 »		
Aove	Máximo 786 huevos	Números de aoves	Máxima 12
	Mínimo 125 »		Mínimo 2
	Medio 475 »		Medio 8
Número de copulas	Máximo 6		
	Mínimo 3		
	Medio 7		
Número de succiones de los machos	Máximo 12		
	Mínimo 3		
	Medio 7		
Número de succiones de las hembras	Máximo 13		
	Mínimo 5		
	Media 9		
Tiempo de succión de los machos	Máxima 60 minutos		
	Mínimo 3 »		
	Media 35 »		
Tiempo de succión de las hembras	Máximo 80 minutos		
	Mínimo 10 »		
	Media 45 »		

C) Lotes sometidos a temperaturas de 37-38° C. y humedad relativa de 90-100 %

Resistencia de los machos	Máxima 595 días
	Mínima 220 »
	Media 362 »
Resistencia de las hembras	Máxima 575 días
	Mínima 133 »
	Media 400 »

Aove	Máximo 905 huevos	»	Número de aoves	Máximo 14
	Mínimo 397			Mínimo 3
	Medio 573			Medio 7
	Número de cópulas		Máximo 3	
		Mínimo 2		
		Medio 2		
	Número de succiones de los machos		Máximo 11	
		Mínimo 4		
		Medio 8		
	Número de succiones de las hembras		Máximo 16	
		Mínimo 6		
		Media 11		
Tiempo de succión de los machos			Máximo 60 minutos	
			Mínimo 10 »	
			Medio 40 »	
Tiempo de succión de las hembras			Máximo 80 minutos	
			Mínimo 35 »	
			Medio 55 »	

#### CONSIDERACIONES

Las experiencias realizadas respecto a la bionomía del *Argas persicus* se desarrollaron durante varios años, entre otros motivos, por los derivados de su gran resistencia a diferentes condiciones ambientales.

La resistencia a la inanición de este parásito es muy grande y queda señalada en los lotes descriptos.

Accidentes en la buena marcha de las estufas, nos permitieron comprobar que resisten sin mayores inconvenientes temperaturas de 55-60° C. durante 24 horas. Sólo murieron los ejemplares viejos y sin alimentar. Las formas jóvenes y alimentadas continuaron su ciclo ontogénico normal.

Los ejemplares sometidos a factores ambientales diversos, no presentaron modificaciones bionómicas entre los portadores del *Treponema anserinum* y los libres de este espiroquete.

El contralor del tiempo de succión se practicó mediante tubos de vidrio de 3-4 cm de diámetro, aplicados en la región costal del *Gallus gallus*.

Para la alimentación de esta garrapata —en sus estados ninfales y adulto— utilizamos cristalizadores con aserrín o afrechillo en el fondo, sobre el cual y a una distancia de 2-3 cm colocamos una tabla de madera agujereada, sobre la que dejamos toda una noche al pollo.

Para la alimentación de las larvas tomamos pollitos de 4-6 días de edad, los que una vez que han sido infestados, los colocamos en jaulas apoyadas en bandejas cuyos bordes tienen colofonía para evitar la salida de los parásitos del ambiente indicado. En los pollitos menores de 4 días de edad tenemos un alto porcentaje de muertos; en los mayores de 6 días perdemos muchas larvas comidas por el pollito.

Las observaciones realizadas permitieron comprobar que las ninfas de 2° estado resisten más tiempo que las ninfas de 1° estado y los ejemplares adultos, doble tiempo que las ninfas de 2° estado. En las hembras existe una ligera resistencia mayor que en los machos.

A mayor temperatura observamos menor resistencia de los parásitos lo que está compensado biológicamente —según creemos— por el aumento proporcional del aove.

## CONCLUSIONES

### CAPÍTULO I

Resistencia a la inanición de ninfas —1° estado— de *Argas persicus*

- |  |             |          |
|--|-------------|----------|
| 1) A 20-26° C y humedad relativa de 90-100 % | viven hasta | 290 días |
| 2) A 32-33° C » » » » » » » »                |             | 190 »    |
| 3) A 37-38° C » » » » » » » »                |             | 130 »    |

### CAPÍTULO II

Resistencia a la inanición de ninfas —2° estado— de *Argas persicus*

- |  |             |          |
|--|-------------|----------|
| 1) A 20-26° C y humedad relativa de 90-100 % | viven hasta | 700 días |
| 2) A 32-33° C » » » » » » » »                |             | 250 »    |
| 3) A 37-38° C » » » » » » » »                |             | 180 »    |

### CAPÍTULO III

Resistencia a la inanición de adultos de *Argas persicus*

- |  |             |           |
|--|-------------|-----------|
| 1) A 20-26° C y humedad relativa de 90-100 % | viven hasta | 1100 días |
| 2) A 32-33° C y » » » » » » » »              |             | 698 »     |
| 3) A 37-38° C » » » » » » » »                |             | 305 »     |

#### CAPÍTULO IV

Parejas —machos y hembras— de *Argas persicus*

En las parejas sometidas a temperaturas de 20-26° C y humedad relativa de 90-100 %.

- A) Los machos viven hasta 1766 días
- B) Las hembras viven hasta 1926 días
- C) Aovan hasta 340 huevos
- D) Aovan hasta 9 veces
- E) Copulan hasta 8 veces
- F) Succionan los machos hasta 4 veces
- G) » las hembras hasta 8 veces
- H) » los machos hasta 55 minutos
- I) » las hembras hasta 70 minutos

En las parejas sometidas a temperaturas de 32-33° C y humedad relativa de 90-100 %

- A) Los machos viven hasta 1100 días
- B) Las hembras viven hasta 1147 días
- C) Aovan hasta 876 huevos
- D) Aovan hasta 12 veces
- E) Copulan hasta 6 veces
- F) Los machos succionan hasta 12 veces
- G) Las hembras succionan hasta 13 veces
- H) Los machos succionan hasta 60 minutos
- I) Las hembras succionan hasta 80 minutos

En las parejas sometidas a temperaturas de 37-38° C y humedad relativa de 90-100 %.

- A) Los machos viven hasta 592 días
- B) Las hembras viven hasta 575 días
- C) Aovan hasta 905 huevos
- D) Aovan hasta 14 veces
- E) Copulan hasta 3 veces
- F) Los machos succionan hasta 11 veces
- G) Las hembras succionan hasta 16 veces
- H) Los machos succionan hasta 60 minutos
- I) Las hembras succionan hasta 80 minutos.

R E S U M E N

Probamos la resistencia a la inanición y otras observaciones biológicas respecto al *Argas persicus* Oken 1818 en sus dos estados ninfales y en el de adulto.

S U M M A R Y

We tested the resistance to inanition and other biological observations with respect to the *Argas persicus* Oken 1818, in its two nymphal states and in the adult one.

BIBLIOGRAFIA

1. ROVEDA, RODOLFO J., 1940 - *Primera contribución al estudio de la bionomía del Argas persicus*. Instituto de Parasitología y enfermedades parasitarias de la Fac. de Agr. y Vet. Bs. As. T. I, Fas. 6.
2. ROHR, CARLOS J., 1909 - *Estudios sobre «Ixodidas do Brasil»*. Trabalho do Instituto Oswaldo Cruz. Río de Janeiro.
3. JÄESCHKE (h) ENRIQUE J., 1916 - *El Argas persicus y la espiroquetosis de la gallina*. Tesis Fac. de Agr. y Vet. Bs. As.
4. JURADO, FÉLIX R., 1941 - *La espiroquetosis aviar, su primer estudio clínico y experimental en el país*. Rev. Sudamericana de endocrinología, innumología y quimioterapia. T. XXIV, N° 8-9 y 10-11 Bs. As. 1941.

## El método de las soluciones de sulfato de cobre para la determinación de algunos componentes de la sangre (\*)

POR EL DR. ISAÍAS SOPEÑA (\*\*)

---

Los investigadores norteamericanos PHILLIPS, van SLYKE, EMERSON, HAMILTON y ARCHIBALD (1) idearon un procedimiento que permite determinar rápidamente el peso específico de la sangre total, y a partir de él la cantidad de hemoglobina con una aproximación de un 10 %. Si se determina además el peso específico del plasma, se puede calcular también la cantidad de proteínas, el valor hematócrito, y aumentar la aproximación de la hemoglobina hasta el 2 % en más o en menos.

*Principio del método.* Consiste en dejar caer una gota de sangre total o de plasma en una serie de soluciones de sulfato de cobre de concentraciones crecientes conocidas, observando si la gota de sangre sube, baja, o permanece en el seno del líquido «entre dos aguas».

Cada gota de sangre al penetrar en la solución se rodea de una capa de proteinato de cobre, y se mantiene así separada de la solución por espacio de 10 a 15 segundos, tiempo suficiente para observar el comportamiento de la gota.

Este método permite medir pesos específicos con una gran exactitud, que los autores aseguran llega hasta más o menos 0.00005, lo cual es más que suficiente, y es más de 100 veces superior a la que se necesita.

Una vez determinado el peso específico de la sangre total y del plasma,

\* Entregado para su publicación en mayo de 1949.

\*\* Profesor titular y Director del Instituto de Fisiología.

(1) KOLMER, J. A., *Diagnóstico Clínico por los análisis de laboratorio*, 1946. T. II, pág. 1185.

se calculan los demás elementos utilizando un ábaco especial ideado por los autores.

Las soluciones tipo de sulfato de cobre se preparan a partir de una solución saturada, diluyéndola convenientemente para preparar una solución madre de densidad 1.100.

A partir de la solución madre se preparan las demás. Para cada solución tipo se ponen en un frasco de 120 c. c. un número de c. c. de solución madre igual al de la segunda y tercera cifra decimal de la densidad deseada disminuída en una unidad, y se completa a 100 c. c. con agua destilada.

*Ejemplo:* Para densidad 1.060; se colocan 50 c. c. de solución madre de densidad 1.100 y se completa con agua destilada hasta 100 c. c. Estas soluciones madre y tipo, no deben diferir entre sí más de 5 grados centígrados.

*Anticoagulante:* El mejor anticoagulante es la heparina, a razón de 0,2 miligramos por c. c. de sangre. En esta proporción no influye en la densidad de la sangre. También es muy buena la mezcla de HELLER y PAUL, que consiste en una mezcla de 3 partes de oxalato de amonio y 2 partes de oxalato de potasio, en la cantidad de 1 miligramo por c. c. de sangre. Utilizando este anticoagulante hay que restar 0,0004 del peso específico de la sangre.

*Técnica:* En un frasco de boca ancha con la solución de densidad conocida, se deja caer una gota de sangre o plasma. La gota se deja caer desde 2 ó 3 centímetros de altura del nivel del líquido del frasco. La gota al caer penetra 2 ó 3 centímetros en el seno del líquido, y antes de 5 segundos, si la gota es más ligera subirá; si la densidad de la gota es la misma que la de la solución permanecerá «entre dos aguas», y si es más pesada caerá al fondo.

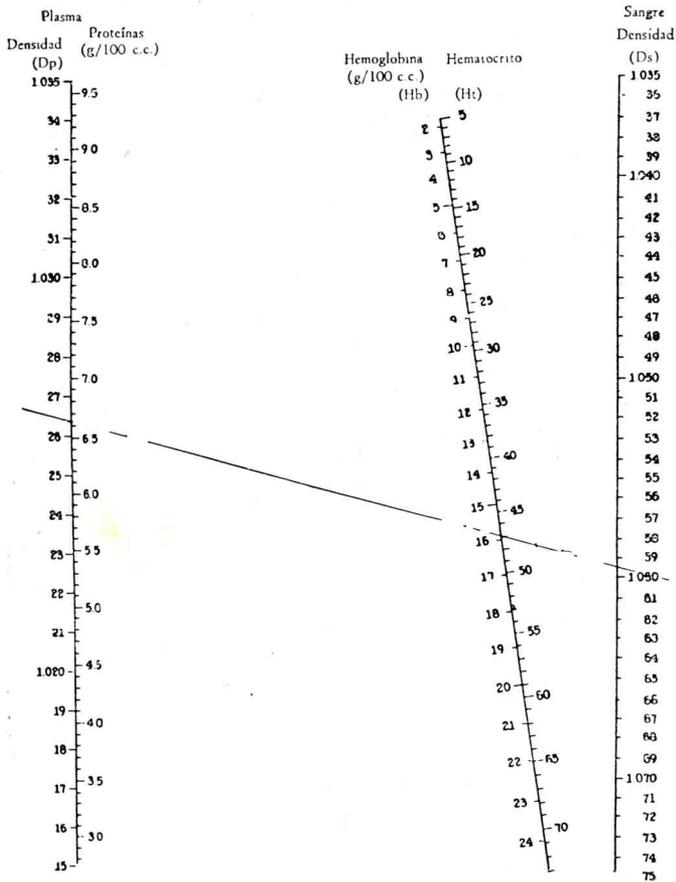
Todas las gotas, cualquiera que sea su densidad, luego de pasados 20 segundos terminan por caer al fondo. Por eso debe procederse a efectuar la observación durante los primeros 10 segundos. Los resultados se leen en el ábaco que aparece en la página siguiente.

*Ejemplo:* Sangre: densidad total 1.060: densidad del plasma 1.026. Uniendo con una regla estos dos valores tendremos: valor hematócrito 47: hemoglobina 16 gramos por ciento de sangre y proteínas 6.6 %.

Este procedimiento ha sido utilizado por los investigadores americanos en miles de casos durante la pasada guerra mundial en los hospitales, y afirman ser de gran utilidad, exactitud y rapidez.

La lectura del trabajo de los mencionados autores, nos sugirió la idea de ensayar ese procedimiento en los animales domésticos, a cuyo efecto

hemos realizado experiencias utilizando 100 caballos, 50 bovinos, 50 cerdos, 50 perros, 10 cabras y 10 ovejas.



Abaco para calcular las proteínas, la hemoglobina y el valor hematocrito según el peso específico del plasma y de la sangre.

### RESULTADOS

*Caballos:* Utilizamos 100 caballos del regimiento de Granaderos a caballo Gral. San Martín, lo que fué posible gracias a la gentileza del veterinario del regimiento doctor Rodolfo Durrieu.

Se trataba de animales de raza M. P. S. C. en su casi totalidad, y muy pocos, mestizos Percheron y Anglo Normando. 60 eran machos y 40

hembras; de edades comprendidas entre los 4 y 15 años y en perfecto estado de nutrición y salud.

### RESUMEN

*Densidad de la sangre:* Comprendida entre 1.054 y 1.062 según detalle siguiente.

15 animales tenían	1.054	de densidad total
14 » »	1.055	» » »
13 » »	1.056	» » »
13 » »	1.057	» » »
15 » »	1.058	» » »
4 » »	1.059	» » »
9 » »	1.060	» » »
2 » »	1.061	» » »
15 » »	1.062	» » »

*Densidad del plasma:* Resultó comprendida entre 1.027 y 1.034 de acuerdo al siguiente detalle.

10 animales tenían	1.027	de densidad
25 » »	1.028	» » »
23 » »	1.029	» » »
13 » »	1.030	» » »
13 » »	1.031	» » »
5 » »	1.032	» » »
5 » »	1.033	» » »
6 » »	1.034	» » »

*Hemoglobina.* Para comprobar si las cifras obtenidas según el ábaco correspondían a la realidad, investigamos en todos los casos la cantidad de hemoglobina, utilizando el hemoglobinómetro modelo HELLIGE-ADAMS que expresa directamente los resultados en gramos de hemoglobina por cien de sangre.

La cantidad de hemoglobina investigada empleando el hemoglobinómetro, resultó casi siempre inferior a la obtenida según la tabla.

### RESUMEN

*Hemoglobina según hemoglobinómetro*

*Según tabla*

Comprendida entre 9 y 13,5 grs. %

entre 11,2 y 17,0 grs. %

## DETALLE

5 animales tenían	9	grs.	%	2 animales tenían	11,8	grs.	%
5 » »	9,5	»	»	13 » »	12	»	»
10 » »	10	»	»	11 » »	12,5	»	»
2 » »	10,2	»	»	3 » »	12,8	»	»
9 » »	10,5	»	»	12 » »	13	»	»
9 » »	11	»	»	4 » »	13,5	»	»
15 » »	11,5	»	»				

*Valor hematócrito.* Se investigó en todos los casos la relación plasma glóbulos, utilizando el hematócrito modelo de WINTROBE, centrifugando a 3.500 revoluciones por minuto, durante 30 minutos.

Los valores obtenidos por cálculo, fueron también en su casi totalidad superiores a los que resultaron empleando el hematócrito.

## RESUMEN

*Según hematócrito*

Valor entre 33 y 48

*Según tabla*

Valor entre 37 y 52

## DETALLE

11 animales tenían	33	8 animales tenían	41
10 » »	34	5 » »	42
1 » »	35	6 » »	43
4 » »	36	5 » »	44
5 » »	37	6 » »	45
6 » »	38	6 » »	46
9 » »	39	2 » »	47
10 » »	40	6 » »	48

*Proteínas.* La cantidad de proteínas del plasma sanguíneo calculada según el ábaco, coincide con ligeras diferencias con las obtenidas por el análisis químico, y resultaron comprendidas entre 6,8 y 9,2 %. Estos valores extremos se alejan algo de lo normal, pero se observaron en pocos casos, 9 y 6 % respectivamente.

## DETALLE

9 animales tenían	6,8	%	6 animales tenían	7,9	%
1 » »	6,9	%	12 » »	8,2	%
25 » »	7,2	%	6 » »	8,6	%
25 » »	7,5	%	5 » »	8,9	%
5 » »	7,8	%	6 » »	9,2	%

## BOVINOS

Se investigó con la sangre de 50 bovinos, 38 novillos del frigorífico Anglo, (gentileza del doctor Enrique Gury Dohmen) y los restantes con animales de la Facultad.

## RESUMEN

*Densidad total.* Resultó comprendida entre 1.054 y 1.062, según lo expresa el siguiente detalle.

10 animales	tenían	1.054	5 animales	tenían	1.058
10	»	»	4	»	»
5	»	»	5	»	»
7	»	»	4	»	»

*Densidad del plasma.* Comprendida entre 1.029 y 1.032 según detalle siguiente.

8 animales	tenían	1.029
17	»	»
16	»	»
9	»	»

*Hemoglobina.* La cantidad de hemoglobina resultó siempre, inferior a la obtenida según la tabla.

*Según hemoglobinómetro*  
entre 9,5 y 13,4 grs. %

*Según tabla*  
entre 12 y 16,5 grs. %

## DETALLE

3 animales	tenían	9,5 grs. %	5 animales	tenían	11,5 grs. %
2	»	»	4	»	»
6	»	»	4	»	»
10	»	»	3	»	»
5	»	»	4	»	»
4	»	»			

*Valor hematócrito.* El valor hematócrito fué ligeramente inferior por cálculo, salvo algunas excepciones, al obtenido directamente empleando el hematócrito.

*Según hematócrito*  
Comprendido entre 38 y 50

*Según tabla*  
entre 38 y 49

## DETALLE

5	animales	tenían	38	2	animales	tenían	44
8	»	»	39	4	»	»	45
10	»	»	40	3	»	»	47
4	»	»	41	2	»	»	48
2	»	»	42	2	»	»	49
3	»	»	43	7	»	»	50

*Proteínas.* La cantidad de proteínas del plasma sanguíneo calculadas según la tabla, resultó netamente superior a la obtenida por análisis, si bien hay que hacer notar que se efectuaron sólo algunos análisis comparativos.

*Según análisis*

Comprendida entre 6,9 y 7,2 %

*Según tabla*

entre 7,5 y 8,6 %

## CERDOS

Se efectuaron ensayos con la sangre de 50 cerdos del matadero de San Martín provincia de Buenos Aires.

## RESUMEN

*Densidad total.* Resultó comprendida entre 1.060 y 1.069 de acuerdo al siguiente detalle.

4	animales	tenían	1.060	14	animales	tenían	1.065
6	»	»	1.062	1	»	»	1.066
8	»	»	1.063	6	»	»	1.067
9	»	»	1.064	2	»	»	1.069

*Densidad del plasma.* Resultó comprendida entre 1.032 y 1.037 según se detalla.

8	animales	tenían	1.032
7	»	»	1.033
10	»	»	1.034
15	»	»	1.035
6	»	»	1.036
4	»	»	1.037

*Hemoglobina.* La cantidad de hemoglobina resultó un poco inferior a la obtenida utilizando la tabla.

*Según hemoglobínómetro*

Comprendida entre 13 y 17,5 grs. %

*Según tabla*

entre 14,5 y 18,5 %

## DETALLE

7 animales tenían	13	grs.	%	1 animales tenían	15,2	grs.	%
5 » » »	13,5	»	»	2 » » »	15,5	»	»
1 » » »	13,7	»	»	3 » » »	16	»	»
8 » » »	14	»	»	5 » » »	16,5	»	»
7 » » »	14,5	»	»	4 » » »	17	»	»
6 » » »	15	»	»	1 » » »	17,5	»	»

*Valor hematócrito.* Los valores hallados experimentalmente empleando el hematócrito, resultaron superiores a los encontrados según la tabla.

*Según hematócrito*

*Según tabla*

Valor comprendido entre 50 y 58

entre 45 y 55

## DETALLE

12 animales tenían	50	6 animales tenían	55
5 » » »	51	3 » » »	56
4 » » »	52	5 » » »	57
7 » » »	53	4 » » »	58
4 » » »	54		

*Proteínas.* La cantidad de proteínas del plasma sanguíneo calculadas según la tabla, resultó netamente superior a la obtenida por el análisis químico como se expresa a continuación.

*Según análisis*

*Según tabla*

Comprendida entre 6,7 y 8,1 %

entre 7,9 y 10 %

## PERROS

Se utilizaron 50 perros del Instituto de Fisiología, procedentes de la perrera Municipal, animales de toda raza, edad y condiciones, aparentemente sanos.

*Densidad total.* Comprendida entre 1.059 y 1.066 según detalle.

6 animales tenían	1.059	8 animales tenían	1.063
10 » » »	1.060	5 » » »	1.064
2 » » »	1.061	4 » » »	1.065
9 » » »	1.062	6 » » »	1.066

*Densidad del plasma.* Comprendidas entre 1.026 y 1.033 como se detalla a continuación.

2	animales	tenían	1.026	5	animales	tenían	1.030
7	»	»	1.027	5	»	»	1.031
18	»	»	1.028	2	»	»	1.032
9	»	»	1.029	2	»	»	1.033

*Hemoglobina.* La cantidad de hemoglobina resultó un poco inferior a la calculada empleando la tabla.

*Según hemoglobinómetro*

*Según tabla*

Comprendida entre 13 y 16,5 grs. %

entre 14 y 18,5 %

#### DETALLE

12	animales	tenían	13	grs.	%	2	animales	tenían	15	grs.	%
4	»	»	13,5	»	»	3	»	»	15,5	»	»
12	»	»	14	»	»	2	»	»	15,8	»	»
4	»	»	14,5	»	»	6	»	»	16	»	»
2	»	»	14,6	»	»	3	»	»	16,5	»	»

*Valor hematócrito.* Los valores encontrados experimentalmente coinciden con ligeras diferencias con los de la tabla y resultaron comprendidos entre 45 y 55.

#### DETALLE

12	animales	tenían	45	3	animales	tenían	50
4	»	»	46	6	»	»	51
2	»	»	47	6	»	»	53
4	»	»	48	1	»	»	54
2	»	»	49	10	»	»	55

*Proteínas.* Los valores obtenidos mediante análisis químicos fueron inferiores a los consignados en la tabla.

*Según análisis*

*Según tabla*

entre 6 y 6,3 %

entre 6,8 y 8,6 %

#### CABRAS

Se efectuaron investigaciones con la sangre de 10 cabras pertenecientes al Instituto de Fisiología.

*Densidad total.* Comprendida entre 1.048 y 1.056.

*Densidad del plasma.* Comprendida entre 1.026 y 1.032.

*Hemoglobina.* La cantidad hallada experimentalmente resultó inferior a la calculada según la tabla.

<i>Según hemoglobinómetro</i>	<i>Según tabla</i>
Comprendida entre 8 y 11,5 grs. %	entre 105 y 15,5 %

*Valor hematócrito.* También resultó un poco inferior al obtenido según la tabla.

<i>Según hematócrito</i>	<i>Según tabla</i>
Comprendido entre 28 y 37	entre 31 y 43

<i>Proteínas según análisis</i>	<i>Según tabla</i>
entre 6,5 y 7,29 %	entre 6,5 y 8,6 %

#### OVEJAS

Se utilizaron 10 del Instituto de Fisiología. Los resultados fueron los siguientes:

*Densidad total.* Comprendida entre 1.050 y 1.059.

*Densidad del plasma.* Comprendida entre 1.026 y 1.031.

<i>Hemoglobina según hemoglobinómetro</i>	<i>Según tabla</i>
Comprendida entre, 9,5 y 11,6 grs. %	entre 11,5 y 15 %

<i>Valor hematocrito</i>	
<i>Según hematocrito</i>	<i>Según tabla</i>
Comprendido entre 32 y 40	entre 36 y 45

<i>Proteínas según análisis</i>	<i>Según tabla</i>
entre 6,8 y 7,3 %	entre 6,6 y 8,5 %

#### CONCLUSIONES

El método de las soluciones de sulfato de cobre ideado por PHILLIPS, van SLYKE, etc. para la determinación de algunos componentes de la sangre, es un buen procedimiento para determinar la densidad de la sangre total y del plasma, pero no puede ser utilizado para los demás componentes como hemoglobina, valor hematócrito y proteínas en los animales domésticos, pues los valores obtenidos según el ábaco, difieren demasiado de los obtenidos experimentalmente.

#### CONCLUSIONS

The method of copper sulphate solutions conceived by Phillips, Van Sylke, etc. for the determination of some blood components, is a good procedure to determine the density of the blood total and of the plasma; but it cannot be used for other components as haemoglobin, hematocritic value and proteins in domestic animals, because the values obtained according the abacus, differ too much from those arrived at by experiment.

## La reacción de Friedmann en equinos (1)

(Utilizando suero sanguíneo)

POR LOS DOCTORES

CARLOS C. MORALES Y FABIO R. DAMONTE (2)

---

### INTRODUCCIÓN

Hemos entendido al iniciar este trabajo que no efectuábamos ningún descubrimiento ni creábamos ninguna técnica nueva, quisimos sólo contribuir con nuestra observación a estar en condiciones por propia experiencia, de asegurar o negar el valor de la reacción de Friedmann aplicada al equino como medio de diagnóstico precoz del embarazo; su todavía discutido éxito en tal aplicación, y, el poco uso de este elemento de diagnóstico en los equinos de nuestro país, y, especialmente en los productos P. S. C., nos indujo también a efectuar este modesto aporte.

### HISTORIA

La posibilidad de llegar a la obtención de un método de diagnóstico precoz del embarazo, inquietó siempre a la ciencia ginecológica sobre todo en medicina humana, que contó desde un principio con el diagnóstico clínico, poco útil cuando pretende ser realmente precoz. El interés constante por conseguir una técnica eficiente, es fácil de comprobar al observar lo numeroso de ellas ideadas, tanto en medicina humana como veterinaria, pudiendo citarse algunas como la de la investigación del índice de alcalinidad de la sangre o Seroreacción de Manoilloff; el método de la antitrombina o reacción de Dienst; la técnica referente al poder

(1) Trabajo presentado para su publicación en junio de 1948.

(2) Encargado del laboratorio del Hospital de la Clínica y profesor adjunto de Clínica Médica y Quirúrgica de Equinos, Rumiantes y Cerdos, respectivamente.

antitriptico del suero de Babdaunay y Ecallo, etc., en veterinaria fueron también propuestas pruebas como la de investigación de la existencia de una antihormona (reacción de Luttge y Meztz), demostración de fermentos protectores (técnica de Abderhalden), modificaciones en los medios coloidales orgánicos (Manoilov) todas estas técnicas citadas, consideradas hoy anticuadas fueron precedidas a su vez de muchas otras, entre las cuales, algunas llenas de empirismo y carentes en absoluto de aplicación. En veterinaria existe, como es bien conocido, la reacción bioquímica de Cuboni cuya aplicación es exitosa, practicándola en sujetos con evolución gestante, a partir de los 90 a 120 días del proceso de gestación.

Lo más importante entre los distintos métodos de aplicación para este diagnóstico, ha sido sin lugar a duda el utilizar reacciones de carácter biológico, vinculándose tal innovación al descubrimiento de las funciones de la hipófisis o pituitaria en sus relaciones con los órganos de la reproducción. En tal forma hemos, entonces, de remontar el origen de la reacción de Friedmann, al descubrimiento de Aschheim y Zondek (1927) en la orina de mujeres grávidas de dos elementos de características hormonales los prolanes A y B considerados hoy, como de origen placentario. Tal hallazgo, que había sido precedido por experiencias de injerto en ratas, de lóbulo anterior de hipófisis, permitió idear a ambos investigadores, un método útil para el diagnóstico del embarazo, consistente en la inyección de orina proveniente de mujeres en estado de gravidez a ratas infantiles, provocando esto en sus órganos genitales, reacciones características identificables con un diagnóstico positivo.

A partir del conocimiento de tales experiencias, numerosos estudiosos trataron de perfeccionar la técnica así como de idear otras. En 1925 Hammond y Marshal, estudiando la reproducción en las conejas, habían observado que éstas no ovulaban espontáneamente, sino que lo hacían después de efectuado el coito, lo que permitía suponer que los ovarios de una hembra virgen no presentarían cuerpos hemorrágicos ni lúteos; Friedmann (1929) aprovechando quizás estos conocimientos y continuando en el estudio del mecanismo de la ovulación, comprobó que los ovarios de coneja respondían también y en forma rápida a la inyección de orina de mujeres grávidas y conjuntamente con Laphan continuó investigando en conejas vírgenes, obteniendo óptimos resultados.

La técnica primitiva de inyectar a estos animales endovenosamente tres veces al día durante dos días consecutivos y observar, por sacrificio 48 horas después de la primera inyección el aparato genital, fué modificándose debido a nuevas investigaciones hasta llegar a la técnica actual más sencilla y rápida. En el año 1932 T. K. Brown utiliza el suero sanguíneo de mujer como material inyectante para la ejecución de esta prue-

ba en la coneja, con buenos resultados, afirmando algunos autores la conveniencia de usar dicho material en contraposición a otros que no aconsejan su uso; sigue primando sin embargo la utilización del material orina, para la ejecución de la prueba. En veterinaria se ha utilizado también el suero sanguíneo equino como elemento inyectante para la ejecución de la prueba de Friedmann, al parecer con buenos resultados, en nuestro país no hemos encontrado bibliografía al respecto.

Ya en la aplicación de reacciones de diagnóstico de carácter biológico, surgieron nuevas experiencias, utilizando cobayas (técnica de Leathem y Starkey) peces japoneses de la familia Cyprininae (técnica de Tosana) también batracios como la rana Esculenta (Konsuloff) y *Xenopus Laevis* o sapo hembra africano del sur, pero a decir verdad ninguna de estas pruebas ha llegado hasta el momento a demostrar positivamente que ha superado por sus resultados a la reacción que ideara Friedmann.

Se ensaya en la actualidad en nuestro país, por iniciativa del Dr. Galli Mainini una reacción biológica que utiliza como animal reactivo al sapo macho (*Bufo Arenarun Hensel*) existente en la Argentina y utilizando como materiales a inyectar, suero u orina proveniente de mujeres grávidas; al parecer esta reacción en la especie humana se comporta en buena forma. Estamos ensayando tal método aplicado también al equino como diagnóstico precoz de gestación, lo escaso de la experiencia efectuada, no nos permite abrir juicio terminante, pero prima facie tenemos la impresión de que esta reacción aplicada al equino, con la técnica actual no podrá suplantar a la reacción de Friedmann sobre la que hemos trabajado.

#### FUNDAMENTOS DE LA REACCIÓN DE FRIEDMANN

Para ocuparnos de los principios en que se basa la reacción, hemos de referirnos en primer lugar a la hipófisis. Esta glándula que se halla como sabemos, ubicada en la cavidad ósea del esfenoides, se encuentra compuesta por tres lóbulos, anterior, medio y posterior, difiriendo cada uno de ellos entre sí morfológica y funcionalmente. De los tres segmentos citados es el anterior el reconocido como el de mayor jerarquía dado el carácter de las hormonas a él directamente vinculadas, lo que le permite jugar un rol director sobre la actividad de otras glándulas incretoras, bástenos recordar a la hormona del crecimiento, la lactotropa, la tireotropa y paratireotropa, la pancreotropa, etc., para atribuir realmente al citado lóbulo anterior las funciones de «director del conjunto endócrino» como se le ha llamado. La estricta vinculación por otra parte, existente entre este segmento hipofisario y las hormonas gonadotropas,

lo hace de especial interés para nosotros, ya que es debido a la acción específica de estas hormonas el que sea factible este método de diagnóstico usando como reactivo animal a la coneja.

Antes de referirnos directamente a la acción específica de las hormonas gonadotróficas, conviene que dejemos aclarado que en la actualidad prima el concepto de que estas tienen su verdadero centro de producción en la placenta, siempre bajo el influjo director de la hipófisis que gobierna su mayor o menor producción. Desvirtúase así la clasificación de hormonas gonadotróficas suéricas o prosilanes A y B y hormonas gonadotróficas placentarias presentes en orina o prolanes A y B.

El hecho de que estas hormonas se hallen en distintas cantidades en los medios sangre u orina estaría vinculado a características propias de cada especie, no estando aún claramente dilucidado cuál o cuáles son los factores que regulan el pase de la hormona a los distintos medios, ni porque en unas especies, la producción hormonal es tan ínfima que no permite la utilización de la misma para la ejecución de la prueba biológica. Así tampoco se halla perfectamente explicado el porqué en la especie humana (hembra gestante) la persistencia de la hormona es continua en una cantidad que permite efectuar la reacción de Friedmann en cualquier período del embarazo, siendo en cambio en la yegua con el transcurso de la gestación la cantidad de hormona cada vez menor. Aún existen todavía teorías encontradas sobre la presencia real de dos tipos gonadotróficos hormonales distintos, en relación a sus efectos, habiendo investigadores que están de acuerdo en afirmar, que la hormona sería una solamente, explicando su distinta acción, maduración folicular y luteinización, por la mayor concentración de la misma en distintas y determinadas circunstancias.

Yendo, pues, a lo práctico de nuestro tema hemos de aclarar que en la yegua, la hormona de maduración folicular está presente en cantidades que permite utilizarla para la reacción biológica, sólo en el medio sangre, y, que tal cantidad declina en forma más o menos acentuada a partir de los 60 a 90 días de gestación, período de máxima presencia, hasta en forma progresiva desaparecer casi por completo. En cuanto respecta a la hormona de luteinización, se halla además de en la sangre, en cantidad notable, también en la orina de yeguas gestantes.

Referente ahora a la acción específica de estas hormonas sobre el ovario, diremos que la llamada por sus efectos de maduración folicular, ejerce una acción estimulante rápida sobre la maduración del foliculo y consecuentemente provoca la ovulación, posee entonces una acción específica sobre el ovario, de la coneja en nuestro caso, semejante a la que produce el coito en la misma, que, como ya dejáramos dicho no presenta ovulación

espontánea. Tal entonces el fundamento de la reacción de Friedmann, ya que, inyectando a una coneja virgen y sexualmente madura el suero sanguíneo de una yegua supuesta grávida, debe en caso de existir embarazo producirse en el ovario de la coneja madurez folicular intensa, con folículos hemorrágicos y posterior dehisencia de los mismos con ovulación; esto demuestra que existe entonces en el suero inyectado gonadotrofina en cantidad suficiente como para producir tal reacción, lo que lógicamente no sucederá en caso de no existir gestación.

En cuanto se refiere ahora a la acción de la hormona llamada por su efecto específico sobre el ovario, de luteinización, tiene ésta por función la transformación del folículo en cuerpo amarillo o lúteo.

#### REACCIÓN DE FRIEDMANN

Pasando a ocuparnos ya directamente de la reacción, hemos de abarcar aquí todo lo relacionado directamente con ella, conviniendo entonces hacerlo por separado con cada uno de los tópicos que a continuación detallamos:

- 1º. — EXTRACCIÓN DE MATERIAL PARA LA MUESTRA.
- 2º. — LA CONEJA COMO ANIMAL REACTIVO.
- 3º. — APARATO GENITAL DE LA CONEJA.
- 4º. — TÉCNICA DE LA REACCIÓN.
  - a) Laparotomía exploratoria.
  - b) Inyección de material.
  - c) Lectura de la reacción.
  - d) Causas de error.
  - e) Posibilidades de acelerar la reacción.

#### 1º. — EXTRACCIÓN DE MATERIAL PARA LA PRUEBA

La extracción de sangre, como material para esta prueba, debe practicarse teniendo en cuenta que lo que procuramos al elegirla es llegar a obtener un diagnóstico precoz. Podemos entonces proceder a la extracción a partir de los 43 días posteriores al servicio que se considere exitoso. A pesar que está estipulado que el porcentaje más alto de hormona en sangre, se halla entre los 60 y 80 días del transcurso del embarazo, esto no impide que con anterioridad y posterioridad a tales términos no existan en la sangre cantidades de hormona suficiente, como para poder producir una reacción positiva al inyectar el suero en la cantidad necesaria.

En lo que se refiere al momento oportuno para efectuar la extracción de sangre teniendo en cuenta al sujeto en sí, el estado fisiológico de ayuno o digestión, reposo, etc., no juega ningún rol de importancia, ya que la concentración hormonal se mantiene constante en cualquiera de estas circunstancias. La técnica de sangría es la común utilizando la vena yugular, debe manipularse guardando las elementales normas de asepsia y esterilidad con todo el material a emplearse. En nuestra práctica hemos utilizado agujas de sangría recogiendo la sangre directamente en envases en los que dejamos se efectuara normalmente el proceso de coagulación y retracción del coágulo, teniendo en cuenta además que la cantidad de sangre extraída rinde en estas condiciones aproximadamente su tercera parte en suero. Puede si se desea utilizarse igualmente plasma, como elemento a inyectar, sirviéndose de cualquier anticoagulante en el momento de extraer la sangre y centrifugando a ésta posteriormente. Nosotros hemos utilizado siempre con buen resultado, el suero sanguíneo. La extracción de 100 c.c. de sangre nos ha permitido obtener siempre un promedio de suero en cantidad que faculta a mantener un resto suficiente del mismo, como para poder repetir la reacción si alguna causa imprevista obligara a ello o se creyera conveniente inyectar a dos animales reactivos.

La conservación del suero en frío a temperatura de 4° a 5° C. o mejor aún a temperatura de congelación, permite mantenerlo en buenas condiciones para ser luego inyectado, llevándolo previamente a temperatura ambiente. Hemos utilizado sueros mantenidos en tales condiciones durante un término de siete días, no habiendo observado ningún inconveniente y comportándose las reacciones positivas obtenidas con semejante material, en forma idéntica a las practicadas con igual muestra de suero pero de reciente obtención, lo que indica que la hormona en tales condiciones de conservación, no sufre modificaciones que perturben su acción específica sobre el ovario, ni en calidad ni en cantidad o concentración.

En los casos en que el material deba tener que extraerse lejos del laboratorio, conviene remitirlo a éste ya en forma de suero, privado del coágulo, en tubo o frasco estéril y en ambiente de baja temperatura termo etc., ya que el calor (38° a 40° C.) es perjudicial para la buena conservación de la hormona. Hemos observado en nuestra práctica que sueros mantenidos hasta 36 horas después de su extracción, a temperatura ambiente en época de verano normal, fueron utilizados posteriormente sin inconvenientes, no obstante insistimos para una mayor seguridad que el envío de material a distancia se practique, manteniendo el mismo en un ambiente de baja temperatura.

## 2º. — LA CONEJA COMO ANIMAL REACTIVO

*Características de las hembras a utilizarse — Cuidados previos  
Alimentación*

Las conejas a utilizarse para efectuar esta prueba pueden ser de cualquier raza, sólo ha de considerarse su edad y peso a lo que se halla vinculado, el estado de desarrollo sexual de la hembra. Está estipulado que la coneja a la edad de tres meses, mantenida con un régimen de alimentación común llega a tener un peso término medio normal de 1.300 a 1.500 gramos. Hemos comprobado además que conejas en tales condiciones, son las que presentan óptimo estado para el buen desarrollo de la reacción, ya que sus ovarios ni demasiado grandes ni demasiado pequeños, poseen folículos en un estado de maduración si bien incompleta, perfectamente sensibles al estímulo hormonal. Por debajo de 1.300 a 1.200 gramos es frecuente hallar el tipo de ovario que se ha dado en llamar «infantil» vale decir bastante pequeño, con folículos apenas primordiales y sin vestigios de maduración primaria, ovarios en tales condiciones requieren pues, un principio de previa maduración y son por consiguiente poco sensibles al estímulo hormonal, pudiendo entonces ser de reacción lenta o completamente nula, como hemos tenido oportunidad de observar; todo lo dicho indica la conveniencia de no utilizar como animal reactivo a hembras en tales condiciones, para asegurar el buen resultado del diagnóstico.

Ya en el peso de 2.000 a 2.500 gramos nos encontramos con conejas de aproximadamente cinco meses de edad, con ovarios típicamente adultos y muy fácilmente reaccionantes, hasta a posibles estímulos externos, hembras en condiciones como las expuestas permiten ser utilizadas para efectuar reacciones, en donde la lectura se desee anticipar a las 48 horas, pero es conveniente dejar dicho que en todos los casos en que se utilice este tipo de animal, debe practicarse invariablemente una laparotomía exploratoria previa, ya que la exquisita sensibilidad de sus órganos de reproducción, puede ponernos frente a sorpresas que mistifiquen el buen diagnóstico. En lo que respecta a conejas de edad más avanzada, el uso de las mismas para la práctica de la reacción no es recomendable, pues su sistema de reproducción puede ser poco o nada sensible a los estímulos hormonales como hemos dicho para el caso de los animales con ovarios infantiles, aunque las causas en ambos casos son de distinto origen, para la finalidad de la reacción resulta exactamente lo mismo.

Aceptada la falta en la coneja de ovulación espontánea es igualmente necesario, observar ciertas normas en lo que se refiere al cuidado previo

de las hembras a utilizarse; éstas deben estar separadas entre sí por un término de más o menos diez días, no siendo conveniente los aislamientos excesivamente prolongados. La separación de los machos debe ser en todo momento absoluta, tratando igualmente de evitar la contigüidad de emanaciones provocadas por los mismos. A pesar de guardar todas estas precauciones es de recomendar, sobre todo cuando se inyecta un solo animal para una prueba, la ejecución de una laparotomía previa a las conejas en las que se ha de practicar la reacción; en tal forma pueden preverse todas las circunstancias factibles de provocar errores, como pueden ser: la observación de órganos genitales atróficos o distróficos, ovarios infantiles por falsas relaciones entre el desarrollo de los mismos y el peso y edad del animal elegido (exceso de alimentación, desarrollo precoz, etc.) y aún también el hallazgo de ovarios en estado de ovulación, por causas desconocidas al que efectúa la reacción.

Referente a los cuidados en la alimentación, convendrá que ésta se practique sin excesos, vale decir en forma racional y con periodicidad discreta, teniendo en cuenta que son animales que por sus condiciones de encierro desarrollan una actividad muy limitada.

Las condiciones de higiene en que ha de mantenerse a estos animales, de más está decir que han de ser escrupulosas, sobre todo si se tiene en cuenta la facilidad con que ciertas parasitosis asientan en el organismo de los mismos. Nuestra observación nos ha permitido verificar lo frecuente del hallazgo de coccidios y quistes de tenia en las conejas de experimentación, notando en los casos de esta última infestación abundantes colectas líquidas intra-abdominales; los perjuicios que acarrear las parasitosis intensas, coloca a los sujetos en tal inferioridad física, que más de una vez malogra la ejecución de la reacción, por ello es que aconsejamos el deshechar para el uso los animales que puedan presentar características visibles de parasitosis.

#### 4º. — TÉCNICA DE LA REACCIÓN

De acuerdo a lo que ya dejáramos dicho, respecto a la conveniencia de efectuar siempre, previamente a la inyección de material para hacer el diagnóstico, una laparotomía, que podríamos llamar de seguridad, trataremos aquí de todo lo que a ella pueda referirse, deteniéndonos solamente en aquellas técnicas que han sido utilizadas por nosotros, por haberlas considerado más convenientes.

*Laparotomía exploratoria*

Como tiempo preparatorio, descontando un ayuno completo del animal a operar no menor de 24 horas, y en posesión de todo el instrumental esterilizado, se procede a la contención extendiendo a la coneja en decúbito dorsal sobre una mesa o tabla operatoria apropiada, fijando cada uno de sus miembros por medio de hilos o vendas a los bordes de la mesa en forma tal que éstos queden bien extendidos en sentido lateral, de manera que tenemos así preparada la región para poder intervenir en forma cómoda.

La zona en donde efectuaremos la laparotomía debe ser librada de pelos, utilizando para ello tijera, navaja, etc., una vez limpia y desinfectada la región con alcohol iodado, comenzamos la operación con la anestesia del sujeto, nosotros hemos utilizado la general etérea por inhalación, la que nos ha dado siempre buenos resultados y un buen silencio abdominal. Puede utilizarse también a tal efecto el alcohol diluído al 50 % en suero fisiológico por vía endovenosa, también la anestesia local infiltrada, con novocaína al 2 % o también inyección intravenosa de amital sódico (60 mg. en agua por kilo de peso).

Efectuada la anestesia y elegida la técnica de laparotomía mediana, practicamos una primera incisión interesando piel y tejido subcutáneo, elegimos para ello la línea media abdominal, teniendo el corte una extensión de 4 a 5 cm., debiendo terminar a una distancia también de 4 a 5 cm., del pubis, utilizando entonces a éste como punto de referencia, en tal forma queda a la vista la línea blanca abdominal, sobre ésta y siempre en el extremo superior de la incisión efectuada, y, cuidando no herir alguna ansa intestinal, practicamos con el bisturí un pequeño ojal hasta el peritoneo inclusive, introduciendo luego por tal abertura la sonda acanalada y utilizándola como guía practicamos una nueva incisión que interesa músculos y peritoneo siempre sobre la línea blanca y hasta el límite demarcado por el primer corte de piel y subcutáneo; en tal forma tendremos así, abierto el abdomen sin vestigios de sangre y en buenas condiciones como para poder examinar perfectamente el estado del aparato genital del animal de experiencia. Para tal objeto es conveniente tratar que las ansas intestinales se desplacen hacia el abdomen anterior, lo que es fácil de conseguir colocando al animal cabeza abajo, por medio de una regular inclinación de la mesa o tabla operatoria. Colocando separadores en los bordes de la herida, ésta se distiende pudiendo desplazarla lateralmente, para observar el ovario izquierdo y derecho.

A veces la vejiga distendida por el abundante contenido de orina, impide la buena observación, una expresión suave de la misma hasta lle-

gar al pubis, provoca una reacción refleja que facilita la micción y subsana este inconveniente.

Una vez bien observados los ovarios, se procede a la sutura del abdomen en dos planos, comenzando con el primero que abarca músculos y peritoneo y para el cual utilizamos puntos pasados o seguidos y catgut N° 0, luego suturamos el segundo plano, formado por piel y tejido subcutáneo aplicando puntos separados y utilizando catgut N° 00. Las suturas deben iniciarse en la parte inferior de la herida operatoria, vale decir, la más cercana al pubis. Concluidas las suturas, se procede a una rápida desinfección del campo operatorio con alcohol.

El peligro de infecciones post-operatorias en estos animales no es de temer, poseen una gran capacidad de defensa que permite el poder trabajar con precarias condiciones de asepsia, lo cual no quiere decir que siempre que nos sea posible no obremos guardando las elementales normas, requeridas para esta clase de intervenciones.

En lo que respecta a la cicatrización ésta queda casi completada en el término de 4 a 5 días, pudiendo observarse la herida cutánea generalmente seca ya entre las 36-48 horas posteriores a la operación.

Para efectuar la segunda lectura de los ovarios, luego de transcurridas las 48 horas de practicada la inyección de material para la ejecución de la prueba, bastará sólo con quitar los puntos de sutura y, divulsionar la herida por medio de la sonda, tendremos así nuevamente a la vista la cavidad abdominal, pudiendo apreciar claramente la reacción o no de los genitales; la herida en que generalmente ya hay un buen proceso de cicatrización iniciado, cierra por lo común nuevamente sin contratiempos luego de esta segunda exploración.

#### *Inyección de material*

Concluida la laparotomía exploratoria previa, hemos de efectuar la inyección de la muestra del suero, para ello elegimos la vena marginal de cualquiera de ambas orejas de la coneja, y, previa desinfección de la región con alcohol o mejor aún con éter y utilizando aguja de medida 20-7 procedemos a inyectar lentamente y en una sola vez. La aguja hemos de tratar de introducirla en la vena a lo largo de un trayecto de aproximadamente 1 y  $\frac{1}{2}$  cm., lo que nos permite comprimir conjuntamente a la aguja y oreja por detrás de la punta introducida, evitando así que los movimientos bruscos muy comunes en estos animales complique la tarea de inyectarlos. Es conveniente observar a medida que se inyecta, el estado del corazón del sujeto, así como sus reflejos oculares, lo mismo que observar si se producen manifestaciones de agitación general y movi-

mientos masticatorios indicando estas últimas reacciones cierta intolerancia a la substancia que se inyecta, o bien demasiado rapidez en la maniobra de inyectar. En general, la inyección del suero que debe estar a una temperatura ambiental, hemos observado que es bien tolerada por las conejas.

En los casos en que los animales son reinyectados, se observan graves trastornos debido a la sensibilidad adquirida al tipo de albúmina inyectada; tal inconveniente que generalmente al no tomar precauciones produce la muerte del animal en experiencia, se subsana en forma cómoda procediendo a inyectar previa a la dosis total, una dosis desensibilizante en cantidad de una vigésima parte del total de suero a inyectar. Transcurridos de 15 a 20 minutos de tal inyección, puede procederse a la administración del resto de la dosis, inyectando entonces muy pausadamente y prestando mayor atención a las aparentes reacciones del sujeto. El agregado de algunas gotas de éter a la dosis de suero a inyectar, contribuye a hacer menos posible la presentación de fenómenos de anafilaxia en los casos de reinyección de suero equino.

Conviene que dejemos dicho, que las conejas que hubieren dado oportunamente una reacción positiva, pueden ser nuevamente utilizadas para otras pruebas luego de un transcurso no menor de mes y medio a dos y debiendo también aquí, como norma invariable, efectuar una laparotomía previa a la ejecución de la nueva prueba. En lo que se refiere a aquellas hembras, que luego de inyectadas acusaran una reacción reactiva, pueden sin ningún requisito de espera previa, ser reinyectadas nuevamente para la ejecución de una nueva reacción. Pasando ahora a ocuparnos de la dosis a inyectar a la coneja, hemos de partir de la base que, siempre que podamos suponer que un suero posee un alto tenor de hormona, la cantidad del mismo a inyectar podrá ser menor que en el caso en que supongamos lo contrario. De cualquier forma, hemos encontrado sin embargo más conveniente tratar de utilizar en la mayoría de los casos una dosis standard, lo que de paso contribuye a poder valorar aunque en forma relativa, la concentración hormonal del suero al comparar la intensidad de las distintas reacciones. Hemos comprobado así, que en todos los casos una dosis de 15 c.c. de suero a inyectar ha sido suficiente para producir reacciones correctas, aconsejando por ello el uso de tal cantidad en la práctica de esta prueba. Como ya dijéramos, conviene cuidar que aquellos sueros conservados a baja temperatura sean llevados antes de ser inyectados a una temperatura que se adapte a la del animal de experiencia.

El hecho de no haber practicado otras técnicas para la inyección del

material no significa, que no puedan ser utilizadas también con éxito la vía intraperitoneal o también la misma intraovárica

### *Lectura de la reacción*

A pesar de estar comprobado que en la coneja, el o los folículos se convierten en hemorrágicos transcurridas 10 horas aproximadamente después de efectuado el coito, y, que esto indicaría la posibilidad de efectuar la lectura de la reacción de Friedmann también dentro del mismo plazo, la práctica aconseja hacerlo 48 horas después de inyectado el material a prueba. En este transcurso de tiempo, los folículos disponen normalmente de un período suficiente como para poder reaccionar al máximo, lo que tiene su importancia sobre todo en aquellas reacciones que evolucionan positivamente con un resultado final débil. En circunstancias de gran urgencia se puede sin embargo intentar la lectura con anterioridad al plazo indicado, siendo conveniente en tales oportunidades el utilizar dos animales de experiencia, aumentando en uno de ellos la dosis a inyectar con objeto de facilitar así, aún más la rapidez de la reacción; de cualquier manera se requiere para la interpretación de la lectura en estos casos determinada experiencia, ya que generalmente las características de la reacción positiva no son tan claramente manifiestas, como cuando se deja transcurrir el plazo de 48 horas.

Vinculada a la mayor o menor concentración hormonal del suero, edad y peso del animal de reacción, sensibilidad mayor o menor de cada individuo a determinada cantidad de hormona, etc. puede presentárenos al efectuar la lectura de la prueba distintos tipos de reacción, desde la clasificada como dudosa hasta la positiva intensa.

Consignaremos en términos generales las características de algunos de estos tipos de reacción.

*Reacción dudosa:* En tal caso se observa: el tamaño de los ovarios sin mayores modificaciones, la forma ligeramente irregular, el color algo más acentuado que lo normal y el aspecto de los folículos ligeramente aumentados en su tamaño y coloración.

Aumentados ligeramente en intensidad, todos estos signos propios de la reacción dudosa, nos encontramos ya frente a una reacción clasificada como *positiva débil*.

Cuando el tamaño del ovario se halla evidentemente aumentado e irregular en su forma (lobulado, sinuoso, escotado, etc.) con una coloración de un tono rojo vinoso, y los folículos aumentados también de tamaño y más fuerte coloración, haciendo franca saliencia sobre la superficie ovárica, nos hallamos ya ante una *reacción positiva franca*.

Acentuados aún más todos estos caracteres, cuando nos hallamos con ovarios casi duplicados en su normal tamaño, sin forma aparente por lo irregular y abollonados, con fuerte coloración rojo violácea y con una superficie en que se hallan incrustados los folículos, exagerados en su tamaño y de una tonalidad de color casi negro, podemos catalogar a este tipo de reacción como *positiva intensa*.

En cuanto se refiere a la lectura de una *reacción negativa*, aquí, todas las particularidades propias del ovario completamente normal, se mantienen sin modificaciones de ninguna clase al término de la reacción.

Es común que el resto del aparato genital, sufra también en los casos de reacción positiva y sobre todo cuando ésta es algo intensa, modificaciones de tamaño y coloración que lo hace aparecer con evidentes manifestaciones de congestión.

Conviene al efectuar la lectura observar siempre ambos ovarios, tanto en la laparotomía previa como en la de fin de reacción, ya que en esta última puede darse el caso y esto, sobre todo, en reacciones positivas débiles, en que uno de los ovarios acuse manifestaciones poco o nada evidentes frente al otro con características de franca positividad.

En lo que se refiere a la forma común de protocolizar los resultados de la reacción, es usual designar a los mismos con los signos + y — precedidos de la letra F, utilizando 1, 2, 3 ó 4 signos más (+) de acuerdo a la intensidad de la reacción positiva observada.

#### *Causas de error*

Pueden indudablemente existir también para esta reacción biológica, causas de error, que pueden ser, apartándonos de aquellos casos en que la falla es imputable a la ejecución de la técnica de la reacción misma, la existencia de falsas reacciones positivas o negativas. La bibliografía consultada en Medicina Veterinaria no se refiere a este punto en particular, pero cabe suponer que en el primer caso la falla puede deberse, a que sueros de animales no preñados, pero cuyo organismo por razones patológicas posea una tasa de concentración hormonal fuera de lo normal produzca una reacción positiva (en Medicina Humana, mola hidatiforme y corioepitelioma, amenorreas varias, etc). El segundo de los casos, falsas reacciones negativas, puede suponerse se deba también, a que alguno de los animales sometidos a reacción, tengan fisiológicamente una tasa hormonal pobre en un principio de su embarazo, o bien que la muestra de sangre, no haya sido extraída dentro del término real que se supone (en Medicina Humana, embarazos muertos con retención, embarazos ectópicos, etc.). En realidad en nuestra práctica, no hemos tenido ocasión

de acumular datos referentes a la posibilidad de casos patológicos que puedan predisponer a falsos resultados de la reacción de Friedmann, razón por la cual no estamos verdaderamente en condiciones de extendernos sobre este particular. Las fallas de reacción que hemos podido comprobar en el curso de nuestra experiencia se han debido solamente al uso de conejas con ovarios de tipo infantil, que casi siempre estuvieron en un peso inferior a los 1.300 gramos y en una edad posiblemente inferior también a los tres meses, en todos los casos hemos podido comprobar la realidad del porqué de la falla anotada.

Apartándonos, pues, de esta causa de error, por otra parte fácilmente prevenible y ya citada con anterioridad por otros experimentadores, estamos en condiciones de decir que en el curso de nuestro trabajo en que hemos efectuado 184 reacciones de Friedmann, no hemos tenido más que un falso resultado, pudiendo afirmar entonces que esta técnica de reacción biológica, ha sido fiel en el casi cien por ciento de los casos.

#### *Posibilidades de acelerar la reacción*

A través de todo lo dicho, se destaca la superioridad hasta estos momentos de esta reacción biológica empleada, frente a todas las de otro tipo, para establecer un diagnóstico precoz y seguro del embarazo en el equino.

El término de 48 horas empleado para ejecutar la reacción, no es exagerado al tomar en cuenta que podemos obtener un diagnóstico preciso a partir de los 43 días de la gestación.

Por esta causa, no nos referimos en este trabajo en forma especial a las posibilidades existentes de acortar aún el plazo de lectura de la reacción, a menos de 48 horas.

Creemos lo mismo conveniente, indicar que con métodos de concentración del suero, inyecciones intraováricas, utilización de laparoscopia y ovarioscopia transperitoneal en la coneja, etc. es posible abreviar el tiempo de ejecución de la reacción de Friedmann, pudiendo ser necesaria alguna de estas modificaciones, en aquellos casos en que el clínico indique la urgencia de conocer el diagnóstico, lo que no es frecuente en las actividades de nuestra profesión por las características con que ella se desenvuelve a diario.

En lo que respecta al uso de esta reacción biológica, luego de un transcurso de gestación de más de 180 días, no es aconsejable, pudiendo utilizarse entonces la reacción química de Cuboni generalmente precisa a partir de tal término de tiempo.

## EXPERIENCIAS REALIZADAS

En los cuadros que a continuación siguen, en los que se consignan las experiencias realizadas sobre la reacción de Friedmann, se detallan en las distintas columnas los siguientes datos:

*Procedencia* (1). — Corresponden al origen o procedencia de las yeguas con cuyos sueros se practicaron las reacciones, como se verá pertenecen éstas en su mayor parte al Haras La Pomme.

*Yegua* (2). — Se identifica aquí con el nombre o con un número a cada animal al que se le practicó la reacción.

*Inyectada* (3). — Se refiere a la fecha de inyección de suero a la coneja, lo que coincide con la ejecución de la laparotomía previa efectuada en todos los casos a las mismas.

*Suero c. c.* (4). — Indícase aquí los centímetros cúbicos de suero inyectados a cada coneja, para cada una de las reacciones ejecutadas.

*Embarazo de días* (5). — Las cifras corresponden al período de días de gestación de las yeguas, hasta el momento en que se les extrajo sangre para inyectar a los animales de experiencia.

*Laparotomía de prueba* (6). — Llamamos así a la laparotomía que se efectúa para comprobar el resultado de la reacción, consignando en esta columna las fechas en que se realizaron para cada caso.

*Resultado* (7). — Detallamos aquí el resultado de la observación de la laparotomía de prueba efectuada, no destacando las intensidades de cada reacción positiva en particular, por considerarlo sin objeto en nuestro caso.

*Observación final* (8). — Los datos aquí anotados, son los suministrados por los haras o dueños de los animales a los que se practicó reacción, teniendo la seguridad de la corrección y seriedad de los mismos. Las abreviaciones «No Fec.» y «Part. Nor.» significan no fecundada y parto normal, respectivamente.

*Reacción n°* (9). — Corresponde la numeración al orden en que se fueron practicando las reacciones, sirviendo además el orden numérico para identificar cada reacción con el protocolo respectivo.

*Observaciones* (10). — Las anotaciones que figuran en esta columna, aclaran cuando es necesario las particularidades de cada reacción, desarrollando a su vez en forma más extensa al final de los cuadros, aquellas observaciones que se distinguen con un número de llamada.

*Explicación correspondiente a cada llamada en la columna de observaciones de los cuadros de experiencia realizadas*

(1) y (2). — Como indica la observación en las reacciones N° 13 y 14 se efectuó doble prueba con igual muestra de suero que el utilizado en las reacciones N° 11 y 12 y con un intervalo de 4 días entre una y otra reacción, manteniendo los sueros en medio ambiente durante tal intervalo. Los resultados fueron concordantes en absoluto.

(3). — En la reacción N° 23 se experimentó una dosis pequeña de suero inyectado 1 ½ c. c., igual al utilizado en la reacción N° 22, habiendo reaccionado la coneja perfectamente, a pesar de tratarse de su suero proveniente de un animal con gestación de solo 44 días.

(4). — Para esta reacción, se utilizó también una dosis pequeña (1 c. c.) de suero inyectado, perteneciente a la misma muestra utilizada en la reacción N° 25. Quedó

EXPERIENCIAS REALIZADAS

PRECEDENCIA	YEGUA	INYECTADA	SUERO C. C.	EMBARAZO DE DÍAS	LAPAROTOMÍA DE PRUEBA	RESULTADO	OBSERVACIÓN FINAL	REAC. N°	OBSERVACIONES
Los Cardales	BALADI	19-12-945	12	84	21-12-945	Positiva	Part. Nor.	1	
»	BLONDE	» » »	»	82	» » »	Positiva	Part. Ncr.	2	
»	BRILLA	» » »	»	85	» » »	Negativa	No Fec.	3	
»	SANTIFU	» » »	»	94	» » »	Positiva	Part. Nor.	4	
»	CONVERSION	» » »	»	123	» » »	Positiva	Part. Nor.	5	
»	MILDRED	» » »	»	93	» » »	Positiva	Part. Nor.	6	
»	SUPREMA	» » »	»	75	» » »	Positiva	Part. Nor.	7	
»	COLD-CREAM	» » »	»	64	» » »	Positiva	Part. Nor.	8	
»	DATILERA	» » »	»	117	» » »	Positiva	Part. Nor.	9	
»	AH-MALAYA	» » »	»	72	» » »	Positiva	Part. Nor.	10	
Dr. Scully	N° 1	7-1-946	8	50	10-1-946	Negativa	No Fec.	11	
»	N° 2	» » »	10	50	» » »	Positiva	Part. Nor.	12	
»	N° 1	11-1-946	10	53	13-1-946	Negativa	No Fec.	13	Suero pert. al mismo animal Reac. N° 11 (1).
»	N° 2	» » »	10	53	» » »	Positiva	Part. Nor.	14	Suero pert. al mismo animal Reac. N° 12 (2).
»	N° 5	1-3-946	10	45	4-3-946	Positiva	Part. Nor.	15	
»	N° 6	» » »	12	49	» » »	Positiva	Part. Nor.	16	
Sr. Stauber	N° 1	28-1-946	8	90	31-1-946	Positiva	Part. Nor.	17	
Dr. Damonte	N° 1	6-4-946	15	180	8-4-946	Positiva	Part. Nor.	18	
»	BLACKIE	21-5-946	15	48	23-5-946	Positiva	Part. Nor.	19	

PROCEDENCIA	YEGUA	INYECTADA	SUERO C. C.	EMBARAZO DE DÍAS	LAPAROTOMÍA DE PRUEBA	RESULTADO	OBSERVACIÓN FINAL	REAC. N°	OBSERVACIONES
Fac. Agr. Vet.	N° 1	4-5-946	10	60	8-5-946	Negativa	No fec.	20	
»	N° 2	» » »	10	60	» » »	Positiva	Part. Nor.	21	
La Pomme	ENCORE-MIEUXCE	9-10-946	8 ½	44	11-10-946	Positiva	Part. Nor.	22	
»	»	» » »	1 ½	44	» » »	Positiva	Part. Nor.	23	Suero pert. al mismo animal Reac. N° 22 (3).
»	DRINA	25-10-946	1	52	28-10-946	Negativa	Part. Nor.	24	Suero perte. al mismo animal Reac. N° 25 (4).
»	DRINA	» » »	8 ½	52	» » »	Positiva	Part. Nor.	25	
»	TINGA-LINGA-LING	4-11-946	9	47	7-11-946	Positiva	Part. Nor.	26	
»	PREC. PRINCESS	» » »	9	65	» » »	Negativa	No Fec.	27	
»	VIPSANIA	» » »	9	45	» » »	Positiva	Part. Nor.	28	Coneja que fué negativa. Reac. N° 24 - poca dosis (5).
»	BRULEE	» » »	9	64	» » »	Positiva	Part. Nor.	29	Mellizos.
»	VALKYRIE	13-11-946	10	66	16-11-946	Positiva	Part. Nor.	30	
»	MADRESELVA	» » »	10	49	» » »	Positiva	Part. Nor.	31	
»	MY-DARLING	» » »	10	46	» » »	Positiva	Part. Nor.	32	
»	MANNAWIND	» » »	10	47	» » »	Negativa	Aborto visible	33	Coneja 1200 g. ovario tipo infantil —muere día 17— (6).
»	SAMEE	18-11-946	7	48	20-11-946	Negativa	Part. Nor.	34	Sin confirmación final.
»	BRULEE	» » »	10	76	21-11-946	Negativa	Part. Nor.	35	Coneja 1320 gr. ovario tipo infantil (7).
»	MYRTILLA	» » »	10	46	» » »	Negativa	Part. Nor.	36	Coneja 1030 gr. ovario tipo infantil —muere día 21— (8).

PROCEDENCIA	YEGUA	INYECTADA	SUERO C. C.	EMBARAZO DE DÍAS	LAPAROTOMÍA DE PRUEBA	RESULTADO	OBSERVACIÓN FINAL	REAC.	OBSERVACIONES
La Pomme	DARFUR	18-11-946	10	44	20-11-946	Positiva	Aborto visible	37	Coneja 1080 gr. —muere día 20— (9).
»	VIXEN-HOLE	» » »	10	47	—	—	Aborto visible	38	Coneja 870 gr. —muere día 19— (10).
»	VIXEN-HOLE	19-11-946	4 ½	47	22-11-946	Positiva	Aborto visible	39	Coneja 1350 gr. —escasa dosis inyectada— (11).
»	PREC. PRINCESS	20-11-946	8	77	» » »	Negativa	No Fec.	40	
»	LORENA	» » »	8	47	Positiva	» » »	Part. Nor.	41	
»	PIPE-DREAN	25-11-946	8 ½	46	27-11-946	Positiva	Aborto	42	Sospecha de aborto fundada.
»	VERONA	» » »	8 ½	47	» » »	Positiva	Part. Nor.	43	
»	MANNAWIND	» » »	8 ½	62	» » »	Positiva	Aborto visible	44	Ver reac. N° 33, suero del mismo animal 15 días después de la primera prueba.
»	HOLLYWOOD	» » »	8 ½	45	» » »	Positiva	Part. Nor.	45	Coneja 1280 gr. ovario tipo inf. muere día 20 (12)
»	SOURIRE	» » »	8 ½	44	» » »	Negativa	Part. Nor.	46	Control de coneja, (reac. N° 46) con el mismo suero (13).
»	SOURIRE	29-11-946	8 ½	44	1-12-946	Positiva	Part. Nor.	47	
»	MYRTILLE	2-12-946	8 ½	61	4-12-946	Positiva	Part. Nor.	48	Control reac. N° 48 con el mismo suero.
»	MYRTILLE	2-12-946	6	61	» » »	Positiva	Part. Nor.	49	

PROCEDENCIA	YEGUA	INYECTADA	SUERO C. C.	EMBARAZO DE DÍAS	LAPAROTOMÍA DE PRUEBA	RESULTADO	OBSERVACIÓN FINAL	REAC. N°	OBSERVACIONES
La Pomme	SAMEE	2-12-946	8 1/2	62	4-12-946	Positiva	—	50	Sin resultado final de observación.
»	SOURIRE	11-12-946	8 1/2	55	13-12-946	Positiva	Part. Nor.	51	Control reac. N° 46 y 47 (14).
»	HOLLYWOOD	» » »	8 1/2	38	» » »	Positiva	Part. Nor.	52	Control reac. N° 45.
»	ANDORRE	» » »	8 1/2	45	» » »	Negativa	—	53	Sin resultado final.
»	FOXTOLE	» » »	8 1/2	48	» » »	Positiva	Part. Nor.	54	
Los Cardales	ABADIA	18-12-946	8 1/2	93	20-12-946	Positiva	Part. Nor.	55	
»	BALADI	» » »	8	92	» » »	Negativa	No Fec.	56	
»	BARASMA	» » »	8	103	» » »	Positiva	Abortó	57	
»	BRILLA	» » »	8	63	» » »	Positiva	Part. Nor.	58	
»	STARLINA	» » »	8	64	» » »	Positiva	Part. Nor.	59	
Dr. Scully	SUERO N° 1	19-11-946	8	50	21-11-946	Negativa	No Fec.	60	
»	SUERO N° 2	» » »	4	61	» » »	Negativa	No Fec.	61	
»	SUERO N° 3	» » »	4	65	» » »	Negativa	No Fec.	62	
»	SUERO N° 4	» » »	8	52	» » »	Negativa	No Fec.	63	
Los Cardales	CABRERA	18-12-946	6 1/2	95	20-12-946	Positiva	Abortó	64	
»	GOLD-DIGGER	» » »	9	70	» » »	Positiva	Part. Nor.	65	
»	BLONDE	» » »	8	90	» » »	Negativa	No Fec.	66	
»	PENNEAD	» » »	6	58	» » »	Positiva	Part. Nor.	67	
»	VANIDAD	» » »	9	72	» » »	Positiva	Abortó	68	
»	MABELUCHA	19-12-946	9 1/2	112	21-12-946	Positiva	Abortó	69	

PROCEDENCIA	YEGUA	INYECTADA	SUERO C. C.	EMBARAZO DE DÍAS	LAPAROTOMÍA DE PRUEBA	RESULTADO	OBSERVACIÓN FINAL	REAC. Nº	OBSERVACIONES
Los Cardales	ELEGANT	19-12-946	9 1/2	124	21-12-946	Negativa	No Fec.	70	
>	MILDREE	>>>	9	103	>>>	Positiva	Part. Nor.	71	
>	COLD OVER	>>>	7	126	>>>	Positiva	Part. Nor.	72	
>	BUENA PIBA	>>>	5 1/2	95	>>>	Negativa	No Fec.	73	
>	CONVERSION	>>>	1 1/2	105	22-12-946	Negativa	Abortó	74	Coneja normal—escasa dosis— (15).
>	CARELESS NUN	>>>	10	95	—	—	Part. Nor.	75	Murió la coneja el 20-12.
La Pomme	CANNELLE	26-12-946	9 1/2	52	28-12-946	Negativa	No Fec.	76	
>	COROSONA	>>>	9 1/2	44	>>>	Negativa	Abortó	77	Ovario infantil, 1185 gr. mu- rió 28-12 (16).
>	COROSONA	28-12-946	9 1/2	44	30-12-946	Positiva	Abortó	78	
>	SWEETNER	26-12-946	9 1/2	45	28-12-946	Negativa	No Fec.	79	Control Reac. 77, mismo suero.
>	GOSSE	>>>	8 1/2	46	>>>	Positiva	Part. Nor.	80	
>	COROSONA	28-12-946	5	51	30-12-946	Positiva	Abortó	81	Control Reac. 77 y 78.
Dr. Scully	SUERO N° 1	2-1-947	8	—	4-1-947	Dudosa	Part. Nor.	82	Manifestaciones poco evidentes, Sin fecha servicio (17).
>	SUERO N° 2	>>>	7 1/2	77	>>>	Negativa	No Fec.	83	
>	SUERO N° 3	>>>	8 1/2	80	>>>	Positiva	Part. Nor.	84	
>	SUERO N° 4	>>>	8	72	>>>	Negativa	No Fec.	85	
>	SUERO N° 5	>>>	5	75	>>>	Negativa	No Fec.	86	

PROCEDENCIA	YEGUA	INYECTADA	SUERO C. C.	EMBARAZO DE DÍAS	LAPAROTOMÍA DE PRUEBA	RESULTADO	OBSERVACIÓN FINAL	REAC. N°	OBSERVACIONES
La Pomme	CANNELLE	3-1-948	8 1/2	61	7-1-947	Negativa	No Fec.	87	Control Reac. N° 76.
»	COWOSONA	» » »	9	51	» » »	Positiva	Abortó.	88	Control Reac. 77-78-81.
»	CANNELLE	» » »	9	61	» » »	Negativa	No Fec.	89	Control Reac. 76-87.
»	LIBEWATION	» » »	8	45	5-1-947	Positiva	—	90	Sin observ. final, sospecha de abortó.
»	SWEETNER	8-1-947	8	60	10-1-947	Negativa	No Fec.	91	Control Reac. N° 79
»	HAWP	» » »	8	46	» » »	Positiva	Part. Nor.	92	
Dr. Scully	SUERO N° 6	14-1-947	8 1/2	52	17-1-947	Positiva	Part. Nor.	93	
»	SUERO N° 7	» » »	9	—	17-1-947	Negativa	No Fec.	94	
»	SUERO N° 8	» » »	9	60	16-1-947	Negativa	No Fec.	95	Sin fecha servicio.
»	SUERO N° 9	» » »	9	62	» » »	Negativa	No Fec.	96	
»	SUERO N° 10	» » »	10	59	» » »	Negativa	No Fec.	97	
»	SUERO N° 11	» » »	10	55	» » »	Negativa	No Fec.	98	
»	SUERO N° 12	» » »	9	50	» » »	Negativa	No Fec.	99	
»	SUERO N° 13	» » »	10	49	» » »	Negativa	No Fec.	100	
La Pomme	CANNELLE	15-1-947	10	71	17-1-947	Negativa	No Fec.	101	Control Reac. 76 87 y 89.
»	GOSSE	» » »	10	60	—	—	Part. Nor.	102	Murió coneja 16-1-947.
»	HARP	22-1-947	8	60	24-1-947	Positiva	Part. Nor.	103	Control Reac. N° 92.
»	SWEETNER	» » »	8	73	» » »	Negativa	No Fec.	104	Control Reac. N° 79-91.
»	GOSSE	» » »	8	67	» » »	Positiva	Part. Nor.	105	Repetición Reac. N° 102.

PROCEDENCIA	YEGUA	INYECTADA	SUERO C. C.	EMBARAZO DE DÍAS	LAPAROTOMÍA DE PRUEBA	RESULTADO	OBSERVACIÓN FINAL	REAC. N°	OBSERVACIONES
Dr. Scully	SUERO N° 7	4-2-947	15	—	6-2-947	Negativa	No Fec.	106	Control Reac. N° 94, sin fecha servicio.
»	SUERO N° 12	» » »	15	—	» » »	Positiva	Part. Nor.	107	
La Pomme	BRUNETE	9-10-947	8 ½	45	11-10-947	Positiva	Part. Nor.	108	
»	BRULEE	» » »	9	48	» » »	Positiva	Part. Nor.	109	
»	BRUNETE	» » »	9	45	» » »	Positiva	Part. Nor.	110	
»	DUCHA	11-10-947	9	47	13-10-947	Positiva	Fecundada	111	Murió yegua, a la autopsia positiva.
»	DUCHA	» » »	9 ½	47	» » »	Positiva	Fecundada	112	Murió yegua, a la autopsia positiva.
»	SAMEE	24-10-947	9	50	28-10-947	Positiva	Part. Nor.	113	
»	SWEETNER	» » »	9	45	» » »	Positiva	Part. Nor.	114	
»	SWEETNER	27-10-947	10	45	29-10-947	Positiva	Part. Nor.	115	
»	SAMEE	» » »	10	50	» » »	Positiva	Part. Nor.	116	
»	MADRESELVA	» » »	10	48	» » »	Positiva	Part. Nor.	117	
»	MADRESELVA	» » »	10	43	» » »	Positiva	Part. Nor.	118	
»	WHISPER	» » »	10	46	» » »	Negativa	Part. Nor.	119	Coneja 1200 gr. — ovario infantil — (18).
»	MANNAWIND	» » »	10	47	» » »	Positiva	—	120	Haras sospecha aborto prematuro.
»	MANNAWIND	» » »	15	47	» » »	Positiva	—	121	Haras sospecha aborto prematuro.
»	LIBERATION	» » »	8 ½	46	» » »	Positiva	Part. Nor.	122	
»	LIBERATION	» » »	15	46	» » »	Positiva	Part. Nor.	123	

PROCEDENCIA	YEGUA	INYECTADA	SUBERO C. C.	EMBARAZO DE DÍAS	LAPAROTOMÍA DE PRUEBA	RESULTADO	OBSERVACIÓN FINAL	REAC. Nº	OBSERVACIONES
La Pehme	EUREKA	27-10-947	10	45	29-10-947	Negativa	No Fec.	124	Anomalía ovarios (19). Control Reac. N° 124.
»	EUREKA	» »	15	45	29-10-947	Negativa	No Fec.	125	
»	LIBERATION	28-10-947	15	46	30-10-947	Positiva	Part. Nor.	126	
»	VALKYRIE II	29-10-947	10	45	3-11-947	Positiva	Part. Nor.	127	
»	VALKYRIE II	29-10-947	15	45	—	—	—	128	
»	FUTILITY	3-11-947	10	44	5-11-947	Positiva	Part. Nor.	129	Coneja útil. Reac. N° 119, murió el 30-10-947.
»	FUTILITY	» »	15	44	» »	Positiva	Part. Nor.	130	
»	VIPSANIA	4-11-947	10 ½	43	6-11-947	Negativa	Part. Nor.	131	Coneja útil. Reac. N° 125. Coneja ovario infantil, (quises) (20).
»	VIPSANIA	» »	10	43	» »	Positiva	Part. Nor.	132	
»	BLUE LOTUS	» »	10	44	» »	Positiva	Part. Nor.	133	
»	BLUE LOTUS	» »	10	44	» »	Positiva	Part. Nor.	134	
»	EUREKA	7-11-947	15	58	10-11-947	Negativa	No Fec.	135	
»	EUREKA	» »	15	58	10-11-947	Negativa	No Fec.	136	
»	ARTESANA	12-11-947	11	45	14-11-947	Positiva	No Fec.	137	Anomalía ovarios - coneja útil. Reac. N° 124 (19).
»	CAMERONIA	» »	11	45	» »	Negativa	Part. Nor.	138	
»	CAMERONIA	» »	11	45	» »	Negativa	Part. Nor.	139	Coneja ovario infantil (21). Coneja ovario infantil (22).
»	ARTESANA	» »	11	45	» »	Negativa	No Fec.	140	
»	ENCORE MIEUXCE	» »	11	45	» »	Positiva	Part. Nor.	141	
»	ENCORE MIEUXCE	» »	15	45	» »	Positiva	Part. Nor.	142	
»	WHISPER	14-11-947	15	73	17-11-947	Positiva	Part. Nor.	143	
»	WHISPER	» »	10	73	» »	Positiva	Part. Nor.	144	

PROCEDENCIA	YEGUA	INYECTADA	SUERO C. C.	EMBARAZO DE DÍAS	LAPAROTOMÍA DE PRUEBA	RESULTADO	OBSERVACIÓN FINAL	REAC. Nº	OBSERVACIONES
La Pomme	CAMERONIA	24-11-947	14	59	26-11-947	Positiva	Part. Nor.	145	
»	CAMERONIA	» » »	10	59	» » »	Positiva	Part. Nor.	146	
»	MILADY	» » »	15	52	» » »	Positiva	Part. Nor.	147	
»	ARTRSANA	» » »	15	58	» » »	Negativa	No Fec.	148	
»	MYRTILLE	26-11-947	12	52	28-11-947	Positiva	—	149	Yegua abortó.
»	MYRTILLE	» » »	12	52	» » »	Positiva	—	150	Yegua abortó.
»	LORINA	» » »	15	50	» » »	Negativa	No Fec.	151	
»	MATYOKA	» » »	15	55	» » »	Positiva	—	152	Yegua abortó mellizos.
»	MATYOKA	» » »	15	55	» » »	Positiva	—	153	Yegua abortó mellizos.
»	POMARA	2-12-947	15	53	5-12-947	Negativa	Part. Nor.	154	Falla animal reactivo (normal) (23).
»	COWOSONA	» » »	15	53	» » »	Positiva	Part. Nor.	155	
»	POMARA	» » »	15	53	» » »	Positiva	Part. Nor.	156	Ver Reac. N° 154 - control de la misma.
»	EUREKA	9-12-947	15	85	11-12-947	Negativa	No Fec.	157	
»	EUREKA	» » »	18	85	» » »	Negativa	No Fec.	158	
»	MILADY	» » »	18	68	» » »	Positiva	Part. Nor.	159	
»	MILADY	» » »	15	68	» » »	Positiva	Part. Nor.	160	
»	CANDONGA	» » »	15	52	» » »	Positiva	—	161	Haras sospecha aborto.
»	ARTESANA	12-12-947	15	78	14-12-947	Negativa	No Fec.	162	Ovarios normales - Coneja usa- da Reac. N° 158.
»	SOURIRE	» » »	15	53	» » »	Positiva	Part. Nor.	163	Ovarios normales - coneja usa- da Reac. N° 157.

PROCEDENCIA	YEGUA	INYECTADA	SUERO C. C.	EMBARAZO DE DÍAS	LAPAROTOMÍA DE PRUEBA	RESULTADO	OBSERVACIÓN FINAL	REAC. Nº	OBSERVACIONES
La Pemme	ARTESANA	12-12-947	15	78	14-12-947	Negativa	No Fec.	164	Ovarios normales - coneja usada Reac. N° 158 y 162.
»	TINGA LINGA LING	19-12-947	15	54	22-12-947	Positiva	Part. Nor.	165	
»	PREC. PRINCESS	»	12	54	»	Positiva	Part. Nor.	166	
»	PREC. PRINCESS	»	15	54	»	Positiva	Part. Nor.	167	
»	LORINA	»	15	77	»	Negativa	No Fec.	168	
»	BRETAGNE	»	15	51	»	Positiva	Part. Nor.	169	
»	BRETAGNE	»	15	51	»	Positiva	Part. Nor.	170	
»	EVENING LULLABY	»	15	51	»	Positiva	Part. Nor.	171	
»	EVENING LULLABY	»	15	51	»	—	Part. Nor.	172	
»	PREC. PRINCESS	30-12-947	15	61	3-1-948	Positiva	Part. Nor.	173	
»	LA MISSION	»	15	46	»	Positiva	Part. Nor.	174	
»	LA MISSION	»	15	46	»	Positiva	Part. Nor.	175	
»	GOSSE	»	15	51	»	Negativa	No Fec.	176	
»	TETRA NEU	7-1-948	15	46	9-1-948	Positiva	Part. Nor.	177	
»	TETRA NEU	»	15	46	»	Negativa	Part. Nor.	178	
»	GOSSE	12-1-948	15	63	14-1-948	Negativa	No Fec.	179	
»	VIXEN HOLE	»	15	58	»	Negativa	No Fec.	180	
»	GOSSE	»	15	63	»	Negativa	No Fec.	181	
»	BOMBAY	15-1-948	15	54	17-1-948	Positiva	Part. Nor.	182	
»	BOMBAY	»	15	54	»	Positiva	Part. Nor.	183	
»	SISTER RURETLE	»	15	47	»	Positiva	Part. Nor.	184	

Coneja murió 19-12 - sin manif.  
a la autopsia.

Coneja útil. Reac. 176.  
Coneja caquética-infantilismo  
ovarial (24).

Coneja útil. Reac. N° 108.  
Coneja útil. Reac. N° 109.  
Coneja útil. Reac. 108 y 180.  
Coneja útil. Reac. 109 y 181.

demostrado que la dosis utilizada fué insuficiente para provocar reacción sobre el ovario de la coneja de experiencia.

(5). — Utilizada la misma coneja a que nos referimos en la llamada anterior, ya con una dosis de 9 c.c. de suero, da una reacción positiva con lo que queda demostrado el buen funcionamiento de su aparato genital.

(6). — En la laparotomía previa de esta coneja, utilizada en la reacción N° 33 se observó infantilismo genital, a pesar de tratarse de un animal que estaba en un peso de 1.200 gr. Practicada lo mismo la prueba, a título de experiencia, se comprobó con la observación final y la reacción N° 44, que la reacción había fallado, como era dado suponer.

Nótese que la coneja muere 4 días después de comenzada la prueba, sin características que puedan relacionarse a la intervención quirúrgica.

(7). — También en esta coneja, utilizada para la reacción N° 35 se observó infantilismo genital, a pesar también de tratarse de un animal con un peso de 1.320 gr, El resultado de la reacción efectuada a título experimental, fué como se ve en el cuadro, falso.

(8). — La coneja utilizada para esta reacción, que estaba en un peso de 1.030 gr., permitió suponer previamente a la laparotomía, el hallazgo de infantilismo en sus órganos de acuerdo al peso, lo que fué confirmado. Utilizada igualmente a título de experiencia, dió como se observa en el cuadro un resultado falso. Nótese que el animal muere en el mismo día en que se efectuó la laparotomía de prueba, sin síntomas que indiquen la culpabilidad de la intervención quirúrgica.

(9). — También esta coneja, que correspondiendo a su peso 1.080 gr. presentó a la laparotomía ovarios infantiles, dió como se observa en el cuadro un resultado falso en la reacción. Notamos también que muere el mismo día en que se efectuó la laparotomía de prueba, lo que no es común en los demás animales de experiencia, y sí se repite en aquellos con ovarios infantiles.

(10). — En la reacción N° 38 utilizamos una coneja de 870 gr. de peso, su organismo genital como suponíamos, fué de características infantiles, inyectada con 10 c. c. de suero (que como lo indica la observación final era positivo) la coneja murió al día siguiente de inyectada.

(11). — El suero utilizado para esta reacción correspondía a una parte del mismo utilizado para la reacción N° 38 que comentamos en la llamada (10) y que con poca dosis 4  $\frac{1}{2}$  c. c. se mostró fuertemente positivo, lo que indica fuerte tenor hormonal

(12). — Para esta reacción N° 46, se utilizó una coneja que con un peso de 1.280 gr. presentó a la laparotomía ovarios infantiles. El resultado de la reacción fué falso. Nótese que también muere esta coneja 2 días después de efectuada la prueba, como ha pasado con casi todas las inyectadas que poseían ovario infantil.

(13). — Por medio de esta reacción, comprobamos que el mismo suero que se inyectó a la coneja en la reacción N° 46 (llamada 12) se mostró con una dosis de 8  $\frac{1}{2}$  c. c. fuertemente positivo en otra coneja normal, lo que indica alto tenor hormonal en dicho suero.

(14). — Por esta reacción, se efectuó un nuevo control de las reacciones N° 46 y 47, utilizando un suero extraído al mismo animal, 13 días después del utilizado en la prueba primera. El resultado de la reacción confirma lo comentado en las llamadas 12 y 13.

(15). — La reacción N° 74 fué ejecutada a título de experiencia inyectando solamente 1  $\frac{1}{2}$  c. c. de suero, la dosis evidentemente resultó escasa, y la reacción fué negativa, fallando por consecuencia de acuerdo a la observación final.

(16). — Se efectuó esta reacción, sobre una coneja que pesando 1.185 gr. manifestó en la laparotomía previa «ovarios infantiles». El resultado de la reacción fué falso, como se comprobó, con la ejecución de las reacciones N° 78 y 81 practicadas utilizando parte de la misma muestra de suero y luego con la observación final. Nótese que la coneja que presentó «ovarios infantiles» murió a la hora de efectuada la laparatomía de prueba.

(17). — Esta reacción N° 82, al efectuar la laparotomía de prueba se manifestó dudosa. Como no se pudo obtener la fecha de servicio, se piensa que la muestra de sangre, pudo haber sido extraída demasiado prematuramente, existiendo en la misma una concentración hormonal muy baja.

(18). — En esta reacción la coneja utilizada tenía un peso de 1.200 gr.; en la laparotomía exploratoria se observaron «ovarios infantiles» el resultado como se comprobó con la observación final fué falso. La misma coneja fué utilizada, para efectuar la reacción N° 128 y murió aproximadamente a las 24 horas de inyectada.

(19). — Para esta reacción N° 124, fué utilizada una coneja que a la laparotomía previa efectuada, presentó y sobre todo en el ovaio derecho un cuerpo semejante a un folículo en avanzado estado de maduración, sin ninguna otra manifestación concomitante con una reacción positiva. Efectuada la laparotomía de prueba, el aspecto de los ovarios no había variado, dándose por ello la reacción como negativa, y coincidiendo por lo mismo con la observación final que fué también negativa. Utilizada nuevamente esta coneja para efectuar la reacción N° 137, indujo en la laparotomía de prueba efectuada esta vez, a error, ya que aparentemente se estaba en presencia de una reacción positiva, lo que controlado con la observación final resultó falso. Indudablemente que la anomalía observada por primera vez en los ovarios, fué una manifestación que indicaba, no debía usarse la coneja para efectuar reacción. Ejecutada lo mismo a título experimental se comprobó el mal funcionamiento del ovario considerando la falla de reacción de acuerdo con la observación final.

(20) — (21) y (22). — En las reacciones N° 131, 138 y 139, se utilizaron conejas, que manifestaron a la observación en las laparotomías previas efectuadas, «ovarios infantiles» inyectadas igualmente a título de experiencia, arrojaron las tres, reacciones con resultados falsos. La importancia de usar animales con tales características, queda pues evidenciada a través de estas pruebas y otras anteriormente citadas.

(23). — La reacción N° 154 fué efectuada, utilizando una coneja que por todas sus características inclusive, las evidenciadas por sus órganos genitales estaba en perfectas condiciones para actuar como animal reactivo. Efectuada la laparotomía de prueba el resultado fué negativo, y posteriormente la observación final demostró que la reacción había fallado. Considerando, que la dosis inyectada (15 c. c. de suero) fué correcta, que el suero correspondía a una yegua con gestación de 53 días, y que esta reacción fué controlada casualmente en forma simultánea con la N° 156 utilizando la misma muestra de suero, tenemos que aceptar que estamos en presencia de la primera y única falla de reacción observada en nuestra experiencia, atribuible por cierto al animal reactivo.

(24). — Para esta reacción N° 178 quedan hechas las mismas indicaciones que las efectuadas en las llamadas 20-21-22 en que se observó infantilismo ovarial en los animales reactivos.

Como se podrá observar, en las reacciones incluídas en los cuadros que anteceden, las hay repetidas algunas, utilizando material proveniente de un mismo animal, a veces el material corresponde a una misma extracción de sangre, otras pertenece a extracciones en períodos de tiempo distinto. Con ello, hemos puesto a prueba la sen-

sibilidad de distintos animales reactivos frente a un mismo suero, y, también hemos asegurado los resultados de las reacciones, sobre todo de aquellas que por primera vez arrojaron un resultado negativo.

### RESUMEN

Se han practicado, utilizando suero sanguíneo de equinos hembras P. S. de Carrera y mestizos, 184 reacciones de Friedmann de las cuales, 156 fueron controladas con la parición o no de los sujetos en experiencia, habiendo arrojado resultados absolutamente precisos. De estas 156 reacciones, corresponden 116 practicadas en equinos con un período de embarazo que oscila entre 43 y 65 días; 31 con embarazos entre 66 y 95 días y 9 practicadas en equinos con un período de embarazo entre 103 y 180 días.

Del resto de las reacciones ejecutadas, que se elevan a 28, una sola de ellas la N° 154 se considera como falla atribuible a la reacción, o mejor dicho al animal reactivo, ya que el aspecto del aparato genital del mismo, peso y desarrollo general, etc. indicaban se hallaba en perfectas condiciones para ser empleado en la reacción. Las 27 reacciones restantes se han descartado, ya que las N° 33, 35, 36, 46, 77, 119, 131, 138, 139 y 178 se ejecutaron a título de experiencia, sobre conejas catalogadas ya en la laparatomía previa como con órganos genitales en estado de infantilismo; en las N° 24 y 74 se inyectó experimentalmente escasa dosis de suero; los animales reactivos correspondientes a las pruebas N° 38, 75, 102, 128 y 172 murieron antes del término de la reacción; en las pruebas N° 42, 90, 120, 121 y 161 el haras sospechó posibilidades de aborto en las yeguas sujetas a experiencia; en las reacciones N° 34, 50 y 53 no fué posible establecer debidamente si las yeguas sujetas a la prueba habían o no tenido cría; en la reacción N° 82 no pudo establecerse correctamente la fecha de servicio y finalmente se ha descartado también la reacción N° 137 por haber observado en el animal reactivo, en la laparotomía previa efectuada, anomalías del aparato genital que no aconsejaban la utilización del mismo para practicar la prueba.

A través de lo expuesto cabe señalar que la reacción Friedmann se ha comportado con una fidelidad de un 99,37 % sobre 157 reacciones practicadas y controladas con la parición de las yeguas de experiencia, lo que indica claramente la bondad de la misma. Se ha manifestado además la reacción de Friedmann sumamente útil, ya que la precocidad con que puede ser utilizada en los animales gestantes, según nuestra experiencia ya a partir de los 43 días, representa para los haras y todas aquellas instituciones que se dediquen especialmente a la cría de equinos una

positiva ventaja, tomando en consideración las épocas en que se practican los servicios, los casos clínicos, etc. Ha evidenciado también esta reacción que puede ser utilizada hasta los 180 días de transcurrido el proceso de gestación, según lo que hemos podido observar. Se destaca a través de lo experimentado con la reacción de Friedmann, la importancia que tiene el efectuar la laparotomía previa en todos los casos, con el objeto de descartar los sujetos reactivos con órganos genitales clasificados como infantiles o, con otras anomalías que pueden dar lugar a fallas en la práctica de la reacción. También es digno de hacer notar lo frecuente de las parasitosis (coccidiosis y teniasis) observadas en las conejas, que a menudo proveen los criaderos especializados para la práctica de la reacción, lo que evidentemente se refleja en las condiciones físicas generales de estos animales disponiéndolos a una capacidad de reacción, inferior a aquellos que se manifiestan a este respecto como normales.

Como se puede observar en los cuadros que se consignan las reacciones ejecutadas, la laparotomía exploratoria aún repetida con cortos intervalos de tiempo es muy bien soportada por las conejas, que demuestran en su generalidad amplio poder de recuperación y fuerte resistencia natural a las infecciones bacterianas.

Como observaciones accesorias hemos de dejar dicho, que pudimos notar en los casos en que se utilizaron conejas con ovarios clasificados como infantiles, que la administración de una dosis más o menos alta de suero y a veces por consecuencia de hormona, provocó en ellas trastornos que más de una vez terminaron con la muerte de las mismas. También pudimos comprobar que las conejas sometidas a experiencia, en su categoría de animal reactivo, fueron en su gran mayoría y con posterioridad a pruebas reaccionantes positivas, infértiles y, de lo contrario con gran propensión a abortos más o menos prematuros. Suponemos que la dosis de hormona inyectada será quizá demasiado alta, lo que puede provocar trastornos, que impedirían posteriormente el correcto sincronismo de las funciones de los órganos genitales y de las glándulas vinculadas al mismo aparato.

#### CONCLUSIONES

- 1°. — Sobre 184 reacciones de Friedmann practicadas a equinos hembras P. S. de Carrera y mestizos, utilizando suero sanguíneo, han sido controladas 157 comprobándose resultados precisos en 156 de ellas, y habiéndose observado una sola falla (animal reactivo) en la reacción N° 154.
- 2°. — La reacción de Friedmann según nuestra experiencia, se ha

comportado con una fidelidad de 99,37 % lo que indica la bondad de la misma y la semejanza con experiencias similares realizadas en la especie humana.

- 3°. — Esta reacción se ha mostrado sumamente útil por la precocidad con que puede ser utilizada, según lo observado, ya que a los 43 días de embarazo puede ser realizada con seguridad.
- 4°. — Hemos podido comprobar que la reacción puede ser ejecutada, también con resultado seguro hasta los 180 días del proceso de embarazo.
- 5°. — Se han descartado de las experiencias realizadas, 27 reacciones por diversas causas, entre las cuales varias por utilizar conejas con «ovarios infantiles» a título experimental, comprobándose que estos animales no son aptos para la prueba en tales condiciones.
- 6°. — En cuanto a la técnica para efectuar la reacción es de fácil ejecución, considerando indispensable en todos los casos una laparotomía exploratoria previa del animal reactivo a utilizarse.
- 7°. — Todo lo expuesto nos permite recomendar la reacción de Friedmann aplicada al equino, por lo precoz, segura, de fácil ejecución y relativamente de poco gasto.

Agradecemos a los Sres. propietarios de los Haras «La Pomme» y «Los Cardales» la cooperación prestada.

#### SUMMARY

1st. — On 184 reactions of Friedmann practised on mares P. S. of race and half-breed, using blood serum, 157 have been controlled, proving absolute precise results in 156 of them; only one failure having been observed in a reactive animal in the reaction N° 154.

2nd. — According to our experience, the Friedmann reaction has been conducted with a preciseness of 99,37 %, a fact that indicates the excellence of same, and the resemblance to similar experiences made on humans.

3rd. — This reaction has proved to be exceedingly useful because of the facility with which it can be employed, since, according to observation, it can be done at the 43rd day of pregnancy with absolute certainty.

4th. — We have been able to prove that the reaction can be carried out with a positive result up to 180 days of pregnancy.

5th. — From the experiences made, 27 reactions for different causes

have been discarded, between which were several for having employed rabbits with «infantile ovaries» as experimental pretext, proving that these animals in such condition, are not apt for the test.

6th. — As far as the technique for making the reaction is concerned, it is of easy execution; in all cases a previous explorative laparotomy is considered indispensable of the reactive animal to be utilized.

7th. — All the above stated permits us to recommend the Friedmann reaction administered to horses, because of its facility, security, easy execution and relative low cost.

#### BIBLIOGRAFIA

- ALESSANDRINI, ALESSANDRO, *Gli Esami di Laboratorio*. 1936. Ed. Luigi Pozzi. Págs. 318-319.
- ANDERSON, JAMES, *El diagnóstico biológico de la preñez en los animales*. Rev. de Med. Vet. 1936. Págs. 677-689.
- BERTHELON, M., *El diagnóstico biológico de gestación*. Recueil de Méd. Vet. Nov. 1937. Pág. 680-695.
- BERTHELON, M., *Sobre o diagnóstico biológico da gestação na égua*. Boletín de Sociedade Brasileira de Medicina Veterinaria. Enero-Febrero, 1940. Págs. 72-75.
- D'OSSAT, LALLO, *Hormonas gonadotropas Hipofisarias y sexuales*. Rev. de Med. Vet. 1944. V. XXVI, N° 7-8. Págs. 341-367.
- DA ROSA, MARIO F., *As Correlações gonado-pré-hipofisarias e o diagnostico biológico da gravidez*. Laboratorio Central de Patología Veterinaria. Lisboa - Portugal. Vol. III. 1938. Págs. 50-91.
- FUENZALIDA LOYOLA, E., *Diagnóstico precoz del embarazo en la yegua mediante la reacción de Friedmann*. Boletín del Ministerio de Agricultura. Julio-Agosto-Septiembre, 1935. Santiago de Chile. Págs. 151-224.
- GIACCAGLIA, MARIO C., *La Reacción de Friedmann-Brouha*. 1941. 97 páginas. Editorial El Ateneo.
- INGLIS y ROBERTSON, *El diagnóstico de la preñez en la yegua por pruebas hormonales*. Rev. Gracolonbiana de Zootecnia, Higiene y Medicina Veterinaria. N°s. 1, 2, 3. 1948. Venezuela. Págs. 208-213.
- KÜST, *Acercas de las Hormonas sexuales en los animales domésticos*. Rev. de Higiene y Sanidad Pecuarias. T. 25. 1935. Págs. 596-601.
- LAQUEUR, E., *Interrelaciones entre las gonadotropinas y las hormonas sexuales*. Semana Médica. 1947. N° 2.770. Año LIV. Págs. 185-195.
- MARTINI, I., *Diagnóstico Biológico de preñez em equa*. Anais 3° Congreso Brasil Vet. Porto Alegre. 1946. Págs. 850-861.
- MAGNUSSON, M. H., *Le diagnostic de la gestation chez la jument au moyen du serum sanguin*. Rev. Gén. Méd. Vet. T. 43. 1934. Toulouse. Págs. 320-336.
- MELLO, MARÍA ISABEL, *Estudos e Revisao dos principais testes para o diagnostico precoce de gravidez*. Memorias del Instituto Osvlado Cruz. T. 40. F. 3. 1944. Págs. 355-374.
- MERCHANTANTE, F. RAÚL, *Valor comparado de diversas reacciones biológicas para el diagnóstico precoz del embarazo*. Semana Médica. Agosto 1948. N° 2.848. Págs. 285-298.

- MORELLI, GUALBERTO H., *Reacción de Friedmann, su técnica, resultados*. Rev. Cír. Méd. Arg. y Centro Estudiantes Med. Marzo-Julio, 1942. Bs. As. Págs. 156-162.
- PONTI, JOSÉ, *Diagnóstico de la gestación de la yegua por el método Friedmann*. Trabajo Final. Vol. I. Fac. Agr. y Vet. de Bs. As. 1944. 51 páginas.
- RODRÍGUEZ, T., *Exptoración clínica de los animales domésticos*. 1935. Págs. 337-343.
- REMLINGER-BAILLY, *Les equides et le diagnostic biologique de la gestation*. Bol. Acad. Vet. Franc. 1934. París. Págs. 197-200.
- RUSSELL GREIG, G., *The Biological Diagnosis of Pregnancy in Animals*. Veterinary Journal. 1936. London. Págs. 200-211.
- SIMONET, H., *Diagnostic biologique de 'a gestation*. Rec. Med. Vet. 1931. París. Págs. 385-401.
- SCHUNERT, A., *Tratado de fisiología veterinaria*. 1942. Ed. Labor. S. A. Págs. 274-283.
- SCHUNERT, A., TRAUTMANN, A. y LRZVWANEK, F. W., *Tratado de fisiología veterinaria*. 1942. Ed. Labor S. A., Págs. 274-283.
- VEDIGAL, ALFREDO y CASTRO NEVES, E., *Diagnóstico de la gestación de la yegua*. Rev. de Med. Vet. 1941. V. XXXVI. Págs. 448-452.
- ZONDEK, B., *Las Hormonas del ovario y del lóbulo anterior de la hipófisis*. 1934. Editorial Labor. 391 páginas.
- ZUCCOTTI, A. S., y POLETTI, C. A., *Reacción de Friedmann*. Rev. de Med. y Ciencias Afines. Mayo 1948. N° 109. Págs. 204-208.
- Diagnóstico precoz de la gestación en la yegua*. Enero-Febrero, 1946, Fecundación Artificial. Vol. 6. Milán. Italia. Págs. 36-48.

# Observaciones sobre la floración de variedades cultivadas de papas (*Solanum tuberosum* L.) y de especies silvestres argentinas

POR EL PROF. TITULAR  
ING. AGR. ENRIQUE L. RATERA (1)

---

El estudio de la floración de las variedades cultivadas de *Solanum tuberosum* L. y *Solanum andigenum* Juz. et Buk., lo mismo que el de especies silvestres de papa, es de mucha importancia especialmente para el mejoramiento por medio de la hibridación.

Sobre este interesante tema se encuentran datos en los trabajos de East (1908), Stout y Clark (1924), Clark (1927), etc.

Es conveniente recordar que una especie o variedad de papa puede florecer y fructificar en abundancia en un determinado lugar, y no hacerlo o voltear prematuramente los botones florales en otro, puesto que sobre las mismas influyen, especialmente, los factores del medio donde se cultivan las plantas (Stout y Clark, Clark, etc.) (2). Sobre la influencia del fotoperíodo en la floración y fructificación de la papa se han ocupado Doroshenco, Karpechenko y Nesterova (1935), Jones y Borthwick (1938), Clarke y Lombard (1939 y 1942), Werner (1941 (a) y 1941 (b)), Henderson y LeClerg (1943), etc.

A continuación se harán algunas consideraciones sobre la floración de variedades cultivadas de *Solanum tuberosum* L., y de especies silvestres argentinas de *Solanum (Tuberarium)*.

Todas las observaciones fueron realizadas en plantas cultivadas en las

(1) Trabajo realizado en el Instituto de Genética de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de Buenos Aires.

(2) También la autoesterilidad de muchas especies de *Solanum (Tuberarium)* dependen «en alto grado de los factores externos, en especial de los de orden climático» (Bukasov, 1939).

condiciones naturales del Campo Experimental del Instituto de Genética de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de Buenos Aires (1).

J. — *Observaciones realizadas en variedades cultivadas de Solanum tuberosum L.*

Se trabajó con las siguientes variedades:

	<i>Variedad</i>	<i>Procedencia</i>
a) <i>Importadas</i>	<i>Alma</i>	Dinamarca
	<i>Bohm's</i>	Austria
	<i>Katahdin</i>	Estados Unidos
	<i>Konsuragis</i>	Alemania
	<i>Robinia</i>	Dinamarca
	<i>Up to Date</i>	Dinamarca
	<i>Wekaragis</i>	Alemania
b) <i>Hijas de importadas</i>	<i>Alma</i>	Buenos Aires
	<i>Birguilla</i>	» »
	<i>Katahdin</i>	» »
	<i>Green Mountain</i>	» »
	<i>Majestic</i>	» »
	<i>Up to Date</i>	» »

El estudio de la floración de estas variedades comenzó a realizarse en el año 1937 y se efectuaron observaciones durante un período mínimo de cuatro años.

Todos los detalles de los estudios realizados se encuentran en los registros correspondientes que están depositados en el Instituto de Genética de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de Buenos Aires.

Para no dar mucha extensión a este trabajo, se indicarán solamente las conclusiones generales a que se ha llegado sobre la base de las observaciones realizadas.

Las principales conclusiones son las que se mencionan a continuación:

1º) Las variedades cultivadas de *Solanum tuberosum* ensayadas se pueden agrupar en las siguientes categorías:

a) Variedades que florecen y fructifican: *Alma*, *Katahdin*, *Konsuragis* y *Majestic* (2)

(1) Las condiciones ecológicas del mismo se dieron a conocer en un trabajo anterior (Ratera, 1948).

(2) En general, el polen de estas variedades es de buena calidad.

- b) Variedades que florecen pero no fructifican y cuyas flores permanecen en las inflorescencias por varios días: *Bohm's*, *Birguilla*, *Green Mountain*, *Up to Date* y *Wekaragis*.
- c) Variedades que no florecen, o que voltean prematuramente sus pimpollos: *Robinia*.
- 2º) En general se observó en todas las variedades estudiadas que, a medida que aumenta el número de multiplicaciones, disminuye la posibilidad de que florezcan cuando se las cultiva por varios años seguidos en la misma región.
- 3º) Después de la segunda multiplicación pocas son las variedades que florecieron en abundancia.
- 4º) Florecieron después de la tercera multiplicación: *Alma*, *Katahdin* y *Majestic*.
- 5º) Se observó que las variedades procedentes del extranjero que no florecieron durante el primer año de cultivo, lo hicieron en el segundo.
- 6º) En general, la floración dura de 7 a 10 días y tiene lugar prácticamente al mes y medio de la brotación.
- 7º) La época de la plantación también influye sobre la floración de las variedades en estudio, observándose que florecieron en abundancia las que se plantaron en el mes de septiembre y en menor grado las de octubre y noviembre.
- 8º) Se observó el mismo comportamiento en las variedades: *Green Mountain*, *Katahdin*, *Majestic* y *Wekaragis*, cultivadas en las quintas de los alrededores de la Capital Federal.

## II. Observaciones realizadas en especies silvestres argentinas.

Se trabajó con las siguientes especies:

<i>Especie</i> (1)	<i>Procedencia</i>
<i>Solanum Commersonii</i> Dunal	Buenos Aires.
<i>Solanum chacoense</i> Bitter	Buenos Aires.
<i>Solanum Garciae</i> Juz. et Buk.	Córdoba.
<i>Solanum gibberulosum</i> Juz. et Buk.	Córdoba.
<i>Solanum Henryi</i> Buk. et Lechn.	Buenos Aires

(1) Un estudio sistemático de las mismas, demostraría que muchas de ellas no son más que variedades o sinónimos de otras.

<i>Solanum Horovitzii</i> Buk.	Salta.
<i>Solanum Macolae</i> Buk.	Mendoza.
<i>Solanum mechonguense</i> Buk.	Buenos Aires.
<i>Solanum Millanii</i> Buk. et Lechn.	Misiones.
<i>Solanum Parodii</i> Juz. et Buk.	Tucumán.
<i>Solanum simplicifolium</i> Bitter	Jujuy.
<i>Solanum subtilius</i> Bitter.	Tucumán.

Todas estas especies se estudiaron también, durante un período mínimo de cuatro años.

De las observaciones realizadas se llega a las siguientes conclusiones:

- 1°) Las especies silvestres argentinas ensayadas, se pueden agrupar en dos categorías:
  - a) Especies que florecen y fructifican en abundancia: *S. chacoense*, *S. Garciae*, *S. gibberulosum*, *S. Henryi*, *S. Horovitzii*, *S. Parodii* y *S. subtilius* (1).
  - b) Especies que florecen pero no fructifican: *S. Commersonii*, *S. Macolae*, *S. mechonguense*, *S. Millanii* y *S. simplicifolium* (2).
- 2°) El período de floración de la mayoría de las especies estudiadas es mayor que el de las variedades cultivadas de *S. tuberosum* a pesar de tener algunas de ellas, prácticamente, la misma duración del ciclo vegetativo.
- 3°) El período de floración de *S. Horovitzii*, *S. Parodii* y *S. subtilius* es más largo que el de las otras especies estudiadas, como lo es también sus ciclos vegetativos, pues mientras en las demás especies es prácticamente de 3 a 4 meses, en éstas es de 5 a 6 meses.
- 4°) Prácticamente florecen al mes de su brotación: *S. chacoense*, *S. Commersonii*, *S. Garciae*, *S. gibberulosum*, *S. Henryi*, *S. Macolae*, *S. mechonguense*, *S. Millanii* y *S. simplicifolium*. Florecen algo más tarde: *S. Horovitzii*, *S. Parodii* y *S. subtilius* (3).

(1) El polen de estas especies es de buena calidad.

(2) *S. Commersonii* y *S. Millanii* (\*) son especies triploides ( $2n: 36$  cromosomas) y presentan un elevado porcentaje de polen estéril. Las demás especies estudiadas son diploides ( $2n: 24$  cromosomas) y con excepción de *S. Macolae*, presentan un buen porcentaje de granos fértiles. A pesar de ello no se observó la producción de frutos ni natural ni artificialmente.

(3) Es común observar en estas tres últimas especies una segunda floración, especialmente en años lluviosos.

(\*) Esta especie también posee clones diploides ( $2n: 24$  cromosomas), pero el polen presenta elevado porcentaje de granos estériles y nunca se ha observado la producción de frutos.

- 5º) Se ha observado que en general, en las especies silvestres, la época de plantación no afecta mayormente al período de floración.

#### R E S U M E N

Se ha estudiado durante un período mínimo de cuatro años, la floración de 10 variedades cultivadas de *Solanum tuberosum* L. y 12 especies silvestres argentinas de *Solanum (Tuberarium)*.

De las variedades cultivadas de *Solanum tuberosum*, se destacan por su floración abundante y fructificación: *Alma*, *Katahdin*, *Konsuragis* y *Majeslic*.

De las especies silvestres, todas florecen en abundancia, pero únicamente fructifican las siguientes: *S. chacoense* Bit., *S. Garciae* Juz. et Buk., *S. Gibberulosum* Juz. et Buk., *S. Horovitzii* Buk., *S. Henryi* Buk. et Lechn., *S. Parodii* Juz. et Buk., y *S. subtilius* Bit.

Todas las experiencias se realizaron en el Campo Experimental del Instituto de Genética de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de Buenos Aires.

#### S U M M A R Y

During a minimum period of four years, the blooming of 10 varieties of *Solanum tuberosum* L., and 12 wild argentine species of *Solanum (Tuberarium)*, have been studied.

For abundant flowering and fructification there are outstanding the following varieties of *Solanum tuberosum*: *Alma*, *Katahdin*, *Konsuragis* and *Majeslic*. Of the wild species, all are flowering abundantly, but only the following fructify: *S. chacoense* Bit., *S. Garciae* Juz. et Buk., *S. Gibberulosum* Juz. et Buk., *S. Horovitzii* Buk., Buk et Lechn., *S. Henryi* S. *Parodii* Juz et Buk., y *S. subtilius* Bit.

#### BIBLIOGRAFIA CITADA

- BUKASOV, S. M., 1939. *El origen de las especies de papa*. Rev. Arg. de Agr. 6 (3): 230-236.
- CLARK, C. F., 1927. *Types of sterilities in wild and cultivated potatoes*. Mem. Hort. Soc. N. Y. 3: 289-294.
- CLARKE, A. E., AND P. M. LOMBARD., 1939. *Relation of length of day to flower and seed production in Potato Varieties*. Amer. Potato Jour. 16 (9): 236-244.
- CLARKE, A. E., AND P. M. LOMBARD., 1942. *Flower Bud formation in the Potato Plant*

- as influenced by variety, size of seed piece, and light.* Amer. Potato Jour. 19 (5): 97-105.
- DOROSHENCO, A. V., E. D. KARPECHENCO y E. I. NESTEROVA., 1935. *Influencia de la longitud del día en la formación de los tubérculos de la papa y de algunas otras plantas.* Rev. Arg. de Agr. 2 (6): 108-132.
- EAST, E. M., 1908. *Some essential points in potato breeding.* Conn. Agr. Exp. Sta., 31 st/32 d. Ann. Repet. (Bien Rpt.) 1907-1908: 429-447.
- HENDERSON, M. T., AND E. L. LECLERG., 1943. *Studies of some factors affecting fruit setting in Solanum tuberosum in the field in Louisiana.* Jour of Agric. Research. Vol. 66 (1): 67-76.
- JONES, H. A., AND H. A. BORTHWICK., 1938. *Influence of Photoperiod and other factors on the formation of flower primordia in the Potato.* Amer Potato. Jour. 15 (12). 331-336.
- RATERA, E. L., 1948. *Ensayos realizados con semillas de papa (Solanum tuberosum L.)* Rev. Fac. Agr. y Vet. Bs. As. T. XII, I: 37-46.
- STOUT, A. B., AND C. F. CLARK., 1924. *Sterilities of wild and cultivated potatoes with reference to breeding from seed.* U. S. Dept. Agriculture. Bull. N° 1185.
- WERNER, H. O., 1941 (a) *Effect on berry production of varied day length during the life of two Triumph Potato Strains.* Amer. Potato Jour. 18 (6): 174-178.
- WERNER, H. O., 1941. (b) *Flower and berry production by Potatoes as influenced by two light intensities and two midwinter planting dates.* Amer. Potato Jour. 18 (12): 349-355.

Presencia de *Shigella equuli* y de bacterias del «Grupo Paracoli» en la médula ósea de un feto de equino abortado

POR EL DR. JOSÉ JULIO MONTEVERDE (\*)

---

En un haras situado en la provincia de Buenos Aires se produjo en el mes de julio de 1948 la prematura expulsión de un feto, aproximadamente durante el transcurso del 5º. mes de gestación. Los datos remitidos desde el lugar aludido indicaban solamente que la yegua, hasta el momento del aborto, se encontraba aparentemente normal y que la forma de presentación fué espontánea. No se dispone de información acerca de si hubo ulterior retención placentaria o alteraciones del aparato genital, ni tampoco se han conseguido informes sobre la necropsia del feto. Las cifras acerca de la incidencia de abortos en el establecimiento, como así también la existencia de otros padecimientos anteriores o actuales en los animales de diferente edad y sexo, se desconocen. Solamente se remitió para análisis bacteriológico un hueso largo («canilla»), completo, de cuya médula el Dr. A. J. Cifoelli obtuvo un cultivo microbiano cuyo diagnóstico bacteriológico ofrecía dificultades y del cual, como se verá más adelante se obtuvieron dos especies microbianas.

El objeto del presente trabajo es dar a conocer los resultados obtenidos en el estudio bacteriológico realizado<sup>1</sup>.

\* Profesor Adjunto de Bacteriología. Facultad de Agr. y Veterinaria. Universidad de Buenos Aires. Jefe de la Sección Microbiología del Museo Argentino de Ciencias Naturales. Bs. Aires.

(<sup>1</sup>) El presente trabajo fué comunicado el 22 de octubre de 1948, en la Asociación Argentina de Microbiología. Bs. Aires, y un resumen del mismo fué publicado en La Prensa Médica Argentina. (XXXV, N° 53 (1948) 2534).

## PARTE EXPERIMENTAL

Los métodos y técnicas seguidas en las investigaciones bacteriológicas que motivan el presente trabajo han sido, en general, las que recomienda la Sociedad de Bacteriólogos Americanos (23). Por lo que se refiere al detalle de las otras pruebas, en especial las que corrientemente se aplican al estudio de la familia *Enterobacteriaceae*, podrá el lector interesado obtener suficiente información en otros trabajos ya publicados (14) (15). La ordenación de la Parte Experimental se ha efectuado de acuerdo con el siguiente plan:

- I: ESTUDIO PRELIMINAR DEL CULTIVO ORIGINAL.
- II: ESTUDIO BACTERIOLÓGICO DEL CULTIVO I<sup>1</sup> (*Sh. equuli*).
- III: ESTUDIO BACTERIOLÓGICO DE LOS CULTIVOS 3<sup>4</sup>, C y D<sup>1</sup> (PERTENECIENTES AL «Grupo *Paracoli*»).

## I ESTUDIO PRELIMINAR DEL CULTIVO ORIGINAL.

A) *Materia de estudio:*

Se trata de un cultivo en agar infusión de carne, incubado durante 24 horas a 37° C, obtenido de médula ósea fetal equina.

Este cultivo se presenta vigoroso, de color blanquecino, la parte central más transparente que el borde del mismo, el cual se presenta ligeramente elevado, opalescente y algo ondulado. El examen en gota colgante permite observar formas cocoides, cocobacilares, diplococobacilares, bastones cortos y finos y formas bacilares largas rectas y curvadas. El tamaño promedio oscila aproximadamente entre 0,3 y 0,5  $\mu$  en ancho para todos y entre 0,8-1  $\mu$  en largo para los cocobacilos y alrededor 15-20  $\mu$  para las formas más largas. Algunos elementos chicos se presentan dotados de movilidad poco activa, predominan las formas inmóviles. Algunos elementos presentan un pequeño halo periférico semejante a cápsula. Los métodos de coloración permiten reconocer que todos los microorganismos se decoloran por el método de Gram-Hucker y se tiñen por los colorantes básicos simples (fucsina, violeta de genciana, safranina). Por acción del azul de metileno fenicado, previa fijación con alcohol éter, es posible distinguir elementos bipolares. No son ácido alcohol-resistentes. La tinción de cápsulas por los métodos de Leifson y Giemsa resulta negativa.

B) *Aislamientos:*

En cajas de Petri conteniendo agar infusión de carne bovina y agar suero se efectuaron aislamientos superficiales, previa suspensión del material en solución fisiológica estéril. Después de 24 horas de incubación a 37° C, se observan: *a*) colonias circulares de borde liso seguido, superficie brillante, centro amarillento y opalescente, siendo el resto transparente, tienen 1,5 a 2 mm de diámetro. Estas colonias al ser tocadas con el alambre recto, son pegajosas y difíciles de retirar del medio, después de tomar contacto con el alambre, al retirar éste se forma un «hilo» que permanece sin romperse hasta una distancia de 1 a 2 cm. — *b*) colonias de forma circular con borde irregular, aplanadas, de superficie poco brillante salvo el centro que además se presenta más elevado dando aspecto de «huevo frito»; cuando se tocan con el alambre son difíciles de despegar y se rompen fácilmente. El diámetro oscila entre 2 y 3 mm. — *c*) colonias circulares, brillantes, de borde ondulado y algo elevado que alcanzan hasta 5 mm de diámetro, a la luz transmitida presentan una serie de bandas concéntricas que le dan aspecto de «escarapela». La consistencia es mucoide.

Se subcultivan 10 colonias que presentan los distintos aspectos ya enunciados, en agar infusión de carne, caldo infusión y caldo lactosado con púrpura de bromocresol; 4 de estas colonias originan cultivos muy pegajosos y viscosos, las restantes originan cultivos menos característicos que desarrollan bien después de 24 horas de incubación a 37° C. Posteriormente, a partir de todos estos cultivos, se efectúan nuevos aislamientos superficiales en agar infusión de carne, quedando su número reducido a 5 cultivos que son los que, aparentemente presentan diferencias entre sí teniendo en cuenta estos escasos datos de caracterización. A partir de estos 5 cultivos se efectúan nuevos aislamientos en agar infusión y finalmente sobre la base de la morfología, tinción, viscosidad de las colonias, aspecto de los cultivos en medios comunes del laboratorio y ataque a la lactosa, quedan en estudio 4 cultivos; de entre ellos uno resultó ser *Shigella equuli* (Cultivo 1<sup>1</sup>) y los restantes (3<sup>4</sup>, C y D<sup>1</sup>) pertenecientes al «Grupo Paracoli».

II) ESTUDIO BACTERIOLÓGICO DEL CULTIVO 1<sup>1</sup> (*Shigella equuli*).a) *Morfología:*

Se trata de organismos inmóviles. Los cultivos de 24 horas incubados a 37° C sobre agar infusión de carne son muy pleomórficos, predominan sin embargo las formas cocobacilares y bastones cortos de  $0.4-0,5 \mu \times$

0,8  $\mu$ -1,2  $\mu$ . Se disponen sueltos o formando pequeñas agrupaciones, algunos elementos se presentan formando cortas cadenas de 4 a 6 elementos, otros tienen la forma de bastones finos con lados paralelos y extremos redondeados con centro más claro que los polos, de hasta 3  $\mu$  en largo; también suelen hallarse formas ligeramente filamentosas curvadas de 15 a 30  $\mu$  de largo y 0,4 a 0,6  $\mu$  de ancho. Algunos elementos aparecen rodeados por un halo claro pequeño (pseudocápsula). En los cultivos de varios días de incubación a 37° C no se demuestran esporas.

b) *Tinción:*

Cultivos en agar infusión de carne desarrollados a 37° C. durante 24 horas son teñidos fácilmente por los colorantes básicos (fucsina, violeta de genciana, cristal violeta, azul de metileno). Se decoloran por el método de Gram-Hucker. No son ácido-alcohol resistentes. Cultivos desarrollados en agar suero no presentan cápsula después de la tinción por los métodos de Leifson y Giemsa. En general cuando los cultivos envejecen, si bien fijan los colorantes básicos, se tiñen más débilmente que los cultivos jóvenes.

c) *Cultivos:*

1) *Agar infusión de carne:* (24 horas-37° C). Abundante pátina blanquecina, superficie brillante, transparente, poco elevada, bordes ondulados. Al extraer cultivo con el alambre terminado en asa, se nota que el cultivo adhiere fuertemente al medio, la consistencia es viscosa y la porción en el alambre retirada no se des prende con facilidad al practicar los trasplantes. Si se toca con el alambre terminado en asa el agua de condensación, que por lo general presenta desarrollo en la superficie, se constata el arrastre de un líquido gomoso de color blanquecino que permite retirar un volumen considerable de este «moco» por sobre el agar, hasta la boca del tubo que contiene el cultivo y desde allí hacia afuera, dando lugar a la formación de «hilos», de hasta 30 cm de largo, que al romperse se retraen rápidamente hacia el interior del tubo y hacia el volumen contenido en el asa. La suspensión de estos cultivos en solución fisiológica no resulta fácil, el líquido adquiere consistencia espesa y presenta filamentos difíciles de desintegrar por agitación a temperatura ambiente, en cambio si la operación se realiza en baño maría a 100° C durante 30 minutos se consigue una suspensión bastante homogénea.

2) *Agar semisólido-infusión de carne (punción):* Después de 24 horas a 37° C. se obtiene abundante desarrollo que origina en el trazo una lí-

nea blanquecina circumscripita, que llega hasta el fondo y que por ulterior incubación no aumenta de tamaño; en la parte superficial y alrededor del punto de penetración del alambre se forma un círculo blanco, brillante y algo elevado de borde seguido y ondulado.

3) *Agar blando-gelatinado*: (Jordan y col.): El cultivo, después de 48 horas de incubación a 37° C y 2 días a temperatura ambiente queda limitado a la zona inoculada (inmóvil).

4) *Agar suero*: (24 horas 37° C): Desarrollo similar, aunque más adherente al que se presenta en el agar infusión de carne.

5) *Agar ascitis*: (24 horas 37° C.): Desarrollo parecido al que se presenta, en el agar suero.

6) *Agar sangre de caballo*: Desarrollo abundante en forma de pátina grisácea, hasta el 8° de incubación a 37° C. no se comprueba  $\alpha$  o  $\beta$  hemólisis.

7) *Agar Sabouraud*: Después de 8 días de incubación a 37° C. no se aprecia desarrollo.

8) *Agar hígado*: (24 horas 37° C.): El cultivo es parecido al que se produce en agar infusión de carne.

9) *Agar Mac Conkey*: (24 horas 37° C.): Desarrollo poco vigoroso, brillante, algo elevado, de color rojo; el borde es transparente.

10) *Agar lactosa-púrpura de bromocresol*: (24 horas 37° C.): Desarrollo similar al que se presenta en agar infusión de carne, el viraje se produce en forma paulatina y poco pronunciada.

11) *Agar desoxicolato-citrato*: Después de 8 días de incubación a 37° C. no se observa desarrollo.

12) *Agar con verde brillante*: (Kristensen, Lester y Jürgens): Después de 8 días de incubación a 37° C. no se observa desarrollo.

13) *Agar Wilson-Blair*: (8 días a 37° C.): No se observa desarrollo.

14) *Agar blando glucosado 1 ‰*: (48 horas 37° C.): En profundidad se presentan colonias lenticulares de 1 mm de diámetro que por ulterior incubación no aumentan de tamaño.

15) *Papa glicerizada*: (4 días 37° C.): No se aprecia desarrollo.

16) *Colonias en agar glicerizado 5 ‰*: (48 horas 37° C.): Se aprecia buen desarrollo; se forman colonias de 5 a 6 mm de diámetro. Este medio es muy apropiado para considerar la variación S→R ya que es fácil reconocer los estados <sup>1</sup> «R» con colonias de superficie irregular, borde con pliegues y escotaduras, algo elevadas y circulares. Las colonias «S» se presentan más aplanadas, brillantes, de superficie lisa y borde seguido.

17) *Colonias en agar infusión*: Las colonias lisas (Foto N° I) se presen-

<sup>1</sup> Según el Código Internacional de Nomenclatura Bacteriológica (3).

tan a las 24 horas aproximadamente de 2 mm de diámetro, son transparentes, con centro opalescente ligeramente amarillento, borde liso, superficie brillante y poco elevadas. Después de 48 horas de incubación a 37° C. las que se encuentran más aisladas alcanzan un diámetro de 3 a 4 mm. Cuando se tocan con el alambre, en el momento de retirar éste, se forma un «hilo» que se rompe a una altura aproximada de 1 cm. No es difícil extraer con el alambre material de la colonia, aunque el cultivo tiene tendencia a adherirse al medio. Las colonias rugosas se presentan de forma circular con bordes ondulados y escotaduras, son más elevadas que las lisas, menos brillantes y la superficie presenta múltiples depresiones: Son adherentes al medio y también dan lugar a la formación de «hilos».

18) *Colonias en agar suero*: El desarrollo es similar al que se observa en agar infusión. Las colonias rugosas presentan un borde irregular y una serie de bandas concéntricas que tienen distinta coloración blanco-grisácea (Foto 2).

19) *Colonias obtenidas de suspensiones microbianas tratadas con ácido salicílico*: La suspensión del cultivo 1<sup>a</sup>, en solución bicarbonatada al 1 % de ácido salicílico, después de 30 minutos de contacto da origen, en agar infusión de carne, a colonias típicamente lisas (estado S) circulares, transparentes, a 37° C. no se comprueba la viscosidad característica de las colonias correspondientes a los estados «R» y «SR». *No adhieren al agar*. El diámetro promedio es de 1,5 mm de diámetro. La transferencia de estas colonias a caldo infusión de carne, da origen a cultivos viscosos que en el aislamiento superficial en agar infusión permite obtener estados "S".

19) *Caldo infusión de carne*: (24 horas 37° C.): El medio se presenta ligeramente turbio, en la superficie y adherido a las paredes se forma un copo blanquecino que forma filamentos hacia el fondo; al agitar suavemente el tubo, estos filamentos caen hacia el fondo con mucha lentitud y los más pequeños quedan en la masa líquida; en el fondo del tubo se aprecia abundante sedimento que por agitación vigorosa se eleva lentamente, arrollándose. El medio tiene consistencia viscosa. Al tocar con el alambre la película superficial como el sedimento y luego retirarlo, se forman «hilos» que, tal como ocurre con los cultivos desarrollados en agar, suelen alcanzar varios centímetros de largo. A medida que progresa el tiempo de incubación, el sedimento es mayor. Parte de la película blanquecina superficial aumenta de tamaño y estando parcialmente sumergida, presenta varios filamentos hacia la profundidad; por agitación caen lentamente hacia el fondo, quedando un anillo blanco marcado en la pared interna del tubo, que no desaparece aún des-

pués de prolongada agitación y contacto con el líquido. El medio de cultivo está, después de 48 horas, muy espeso y al agitar con vigor, las burbujas de aire que penetran se dirigen lentamente hacia la superficie y el sedimento se eleva formando una masa cónica densa y ondulada que tarda en volver a la situación primitiva.

20) *Caldo-suero*: (24 horas 37° C.): Cultivo parecido al que se presenta en caldo infusión de carne, se forma un verdadero velo que flota y queda despegado de la pared del tubo, además se presenta en la masa líquida desarrollo granular contra las paredes del tubo.

21) *Caldo-hígado*: (24 horas 37° C.): Se produce enturbiamiento uniforme sin velo ni depósito, a medida que progresa el tiempo de incubación, se forma escaso sedimento granular y el medio no presenta la viscosidad de los cultivos desarrollados en caldo infusión.

22) *Caldo con selenito ácido de sodio*: (8 días a 37° C.): No se aprecia desarrollo.

23) *Caldo tetrionato*: (8 días a 37° C.): No se aprecia desarrollo.

24) *Caldo con tetrionato y verde brillante*: (Müller-Kauffmann): Después de 8 días de incubación a 37° C. no se aprecia desarrollo.

25) *Caldo infusión con trozos de carne*: (24 horas 37° C.): Desarrollo abundante, turbiedad uniforme, formación parcial de velo blanquecino, adherido en parte a la pared del tubo y que al desprenderse deja marcado en el vidrio un anillo incompleto. Hay escaso sedimento.

26) *Caldo glucosado*: (tubo de Hall): Desarrollo abundante en ambas zonas. Abundante sedimento viscoso-blanquecino que se eleva en «escalera de caracol». No se forma velo.

27) *Agua peptonada*: (24 horas 37° C.): Enturbiamiento poco pronunciado sin velo ni depósito.

28) *Caldo Tarozzi con tapón de vaselina*: (24 horas 37° C.): Abundante desarrollo, turbiedad uniforme; no hay desprendimiento de burbujas; muy escaso sedimento.

29) *Caldo glicerinado al 5 %*: (48 horas 37° C.): Se forma velo denso, blanquecino y pegajoso; sedimento escaso y entre ambos, escasa turbiedad de la masa líquida; por agitación vigorosa se desprende el velo formando un ovillo que tarda en caer al fondo del tubo. El anillo que queda adherido en la pared interna del tubo es marcadamente visible.

#### d) *Vitalidad y resistencia:*

1) Los cultivos desarrollados en la superficie del agar infusión de carne no presentan signos de vitalidad después de permanecer a 37° C.

alrededor de 40 días, en cambio los cultivos mantenidos a temperatura ambiente resisten más de 55 días.

2) Los cultivos en caldo permanecen vivos en las mismas condiciones algo más de 60 días respectivamente.

3) El enfriamiento a + 5° C. no aumenta el período de supervivencia en algunos cultivos, por el contrario lo acorta ya que viven entre 14 y 17 días (desarrollo en agar) y 20-22 días (desarrollo en caldo).

4) Cultivos desecados al vacío y mantenidos en ambiente seco y a baja temperatura (+ 6° C.) viven más de 60 días.

5) Estos microorganismos no resisten mucho frente al calor y los antisepticos usuales siendo destruídos después de permanecer 2 minutos a 100° C., 40 minutos a 60° C. y 24 horas a 44° C.

El formol al 1 % los destruye en 1 minuto; al 1 ‰ no los destruye en 30 minutos, pero después de 24 horas de contacto los mata. El fenol al 1 % los destruye en 1 minuto, al 1 % no los destruye en 30 minutos. El ácido salicílico al 1 % en solución bicarbonatada no los destruye después de 30 minutos de contacto, en forma similar se comporta la solución al 1 ‰. El permanganato de potasio en solución al 1 ‰ los destruye en 1 minuto. El alcohol etílico de 60° los destruye en 1 minuto. El alcohol etílico de 96° los destruye en 5 minutos.

6) La penicilina (sal sódica) actúa en medio líquido inhibiendo el desarrollo hasta la concentración de 1|10 de Unidad Oxford por ml. En medio sólido se produce zona de inhibición de 14 mm de diámetro hasta la concentración de 0,075 de Unidad Oxford por ml. Los controles de vitalidad demuestran que hasta la concentración señalada hay efecto bactericida. (Después de 24 horas de contacto).

La estreptomycinina inhibe el desarrollo en medio líquido, hasta la concentración de 0,034 mg por ml. Probablemente su acción inhibitoria se cumple a concentraciones más bajas, ya que los resultados obtenidos no han permitido llegar a la mínima concentración que produzca efecto inhibitorio en medio líquido. A la concentración aludida este antibiótico se muestra bactericida. (Después de 24 horas de contacto).

7) El sulfatiazol, inhibe el desarrollo en medio líquido hasta la concentración de 0,00022 g. por ml. En estos ensayos se empleó solución al 5 %. A la concentración señalada, la droga tiene efecto bactericida. (Después de 24 horas de contacto).

e) *Relaciones con el oxígeno:*

Desarrolla tanto en aerobiosis como en anaerobiosis, pero en presencia de oxígeno lo hace en forma más vigorosa.

f) *Relaciones con el pH:*

Los medios con pH vecinos a la neutralidad o ligeramente alcalinos, (7,2-7,4) le son particularmente favorables; pH inferior a 6,0 y superior a 9,0 no favorece la multiplicación.

g) *Cromogénesis:*

No produce pigmento en los medios estudiados.

h) *Relaciones con la temperatura y fisiológicas:*

A temperatura ambiente (+ 20° C.) comienza a desarrollar débilmente, sin presentar velo ni la viscosidad característica (48-72 horas). El mejor desarrollo se obtiene a 37° C. A 44° C. y a + 6° C. no desarrolla después de 4 días.

i) *Pruebas bioquímicas y fisiológicas:*

1) *Acción sobre la leche tornasolada:* Después de 24 horas de incubación a 37° C. la reacción indica poca acidez, transcurridos dos días de incubación, el medio se vuelve espeso y filante, al 3er. día de incubación se inicia la decoloración de la parte inferior del medio que toma las 3/4 partes de la columna líquida; entre el 10° y 12° días consecutivos de incubación, se produce coágulo blando que no se redisuelve, al menos hasta el 15° día.

2) *Acción sobre los nitratos:* (24 horas 37° C.): Reduce a nitritos, en caldo adicionado de 1 % de nitrato de potasio.

3) *Prueba del Rojo de Metilo:* (8 días 37° C.): No hay desarrollo en el medio peptona-glucosa-fosfato.

4) *Prueba de Voges-Proskauer:* (8 días 37° C.): No hay desarrollo en el medio peptona-glucosa-fosfato.

5) *Medio sintético citratado de Koser:* (8 días 37° C.): No se presenta desarrollo.

6) *Producción de SH<sub>2</sub>:* Negativa.

7) *Producción de indol:* Negativa.

8) *Hemólisis en agar sangre:* Negativa.

9) *Acción sobre la gelatina:* (30 días 37° C.): No licua.

10) *Medio «tamponado» con urea:* (Prueba R.S.S.): (8 días 37° C.): No hay desarrollo.

11) *Medio semisólido-lactosa-urea-doble indicador:* Viraje hacia el color azul en 24 horas a 37° C., se intensifica a las 48 horas debido a la hidró-

lisis de la úrea. Después de varios días el trazo de punción presenta tonalidad amarillenta dentro de la masa azul del medio.

12) *Producción de catalasa*: (24 horas 37° C.): En agar infusión de carne no hay producción de catalasa.

13) *Prueba de Eijkman para shigelas*: Negativa.

14) *Caldo Mac Conkey*: Se presenta desarrollo, después del 2° día de incubación a 37° C. el medio aclara algo y entre el 6° y 8° días se presenta débil acidificación.

15) *Pruebas de fermentación*: Se presenta producción débil de ácido solamente, en los medios basales conteniendo las siguientes sustancias: celobiosa, dextrina, galactosa, levulosa, lactosa, maltosa, manita, manosa, melibiosa, rafinosa, sacarosa, trehalosa, xilosa.

No presenta acción sobre: arabinosa, dulcita, eritrita, inulina, melizitosa, ramnosa, salicina y sorbita.

j) *Reacciones serológicas*:

Cultivos en agar de 24 horas de incubación a 37° C suspendidos en solución fisiológica hasta turbiedad similar al tubo N° 2 del nefelómetro de Mac Farland e inyectados al conejo por vía endovenosa, desde 0,5 ml hasta 2,5 ml cada 3 días y cumpliendo un mínimo de 7 inoculaciones, dan origen a la producción de anticuerpos aglutinantes y precipitantes. El cultivo en estudio fué probado frente a los siguientes sueros aglutinantes anti-shigelas: Flexner V, W, X, Z, Y; Boyd 8 8, 103, P119, P274, P288, P143, D1, D19, 170; Sonnei I, Sonnei II, Alkalescens 2, 5 y 6 Dispar 1, 2 y 3; Newcastle 1 y 7; Schmitz; Sachs A12; B105, Q771, Q1030, Q1167, B81, Q454, Q902; Etousa; Gober 8524 y Nuevo tipo 1.831., sin que ninguno de ellos produjera aglutinación, salvo el Sonnei I que originó grumos tardíos y aparentemente sin significado como para considerar relaciones antigénicas.

k) *Poder patógeno*.

Fué probado por inoculación de cultivos de 24 horas de incubación a 37° C desarrollados en agar infusión, vigorosamente agitados hasta obtener suspensión bastante homogénea de una turbiedad correspondiente al tubo N° 2-3 del Standard de Mac Farland.

1) *Laucha blanca* (20-25 g)

Subcutáneo: (Dosis 0,5 ml) Los animales resisten sin morir. No se presenta chancro de inoculación.

Intraperitoneal: (Dosis 0,5 ml). Algunos animales mueren antes de 20 horas, otros resisten más tiempo, en general sucumben antes de trans-

curridas 30 horas después de inoculados. Antes de que se produzca la muerte dejan de comer, permanecen inmóviles con la cabeza inclinada hacia abajo, el pelo erizado, los ojos entornados o cerrados, los movimientos son sumamente limitados y al avanzar se aprecia incoordinación y tendencia a perder el equilibrio. En la autopsia algunos ganglios superficiales se presentan congestionados y hemorrágicos; en la cavidad abdominal suele presentarse derrame sero-hemorrágico. Por lo general hay gran acumulación de gases en el intestino delgado, en algunos segmentos se constata la presencia de contenido amarillento-viscoso en cantidad apreciable; en algunos animales se aprecia congestión renal y zonas con pequeñas hemorragias difusas. En la cavidad torácica escaso exudado seroso, a veces líquido en el saco pericárdico. Pulmones color rojo anaranjado, a veces con zonas congestivas.

Los retrocultivos practicados de los distintos órganos indican que *Sh. equuli* se aísla del corazón, riñón, cerebro, exudado peritoneal y líquido pericárdico.

Si se disminuye la dosis, las lauchas resisten la inoculación. La inyección de aproximadamente 15.000, 35.000 y 70.000 gérmenes (recuento viable en agar infusión) no tiene efecto mortal.

### 3) Conejo.

Subcutáneo: (Dosis: 1 ml). Después de 24 horas se forma un nódulo de aproximadamente 1 cm de diámetro, sin que la piel esté afectada. No hay calor local y la rubefacción es muy escasa. A las 48 horas el abultamiento retrocede, la piel continúa sin cambios y a las 96 horas la zona adquiere aspecto normal.

Endovenosa: (Dosis: 1 ml). Los animales permanecen aparentemente normales, salvo en lo que respecta a los puntos de inoculación. Sobre 4 conejos inoculados para obtener sueros aglutinantes, se comprobó en 3 de ellos hematoma en la zona inoculada, espesamiento de los tejidos, dolor y posterior inutilización de la vena, lo que dificultaba las inoculaciones en serie, debiéndose utilizar la vena central y la transversal de la base del pabellón auricular. Los animales afectados se resisten a la inoculación, el espesamiento tisular del lugar no favorece la correcta inyección. En algunos animales existen aparentemente trombosis venosas a la altura de los puntos inoculados ya que el líquido que se inyecta, se desplaza por las venas colaterales sin pasar por el lugar afectado.

### 2) Cobayo (160 g 340 g).

Subcutáneo: (Dosis 0,5 ml). Después de 24 horas se presenta a la palpación espesamiento debajo de la piel en el sitio inoculado, generalmente

se presenta rubefacción; la elevación de la piel no es pronunciada, salvo en algunos animales que da lugar a la formación de un nódulo indurado. En otros sujetos, entre 24 y 48 horas, se aprecia en el punto inoculado una parte ulcerada con pérdida de tejido superficial de contorno irregular (Foto N° 4) estando la depresión ocupada por una escara consistente y seca de color rojo oscuro. Al borde de la úlcera continúa tejido edematizado y zonas de rubefacción, hay dolor a la presión suave. Después de 48 horas se notan en algunos sujetos ulceraciones de hasta 1,5 cm de diámetro (aproximado), los tejidos circundantes y subyacentes respecto de la ulceración no han variado mucho. Al tomar entre pulgar e índice, a manera de pinza, los extremos de un mismo diámetro de la úlcera, con suave presión hacia abajo, se percibe la extensión de la zona indurada que es de mayor superficie que la úlcera y en donde el conectivo subcutáneo produce la sensación de estar soldado con la piel y los planos inferiores. Después de transcurridas 96 a 144 horas, aparecen pocos cambios en algunos animales. Posteriormente el borde de la úlcera puede presentarse algo elevado y fluctuante, de color amarillento, poco más tarde se inicia el desprendimiento de la escara, la que una vez eliminada deja en descubierto, en el fondo, zonas rojas y amarillentas. Los exámenes bacteriológicos practicados en estos momentos no permiten en todos los casos aislar *Sh. equuli*. Las acciones mecánicas favorecen el desprendimiento de la costra y aún la prematura apertura de algunos abscesos que contienen pus cremoso con estrías sanguinolentas. La palpación de los ganglios inguinales indica un aumento de tamaño. Los animales no pierden el apetito, algunos enflaquecen transitoriamente. Una vez desprendida la costra ésta es repuesta rápidamente y mientras el proceso se resuelve con lentitud hacia la cicatrización, se pueden producir 2 y 3 cambios con sus respectivas reposiciones.

Se han inoculado también cobayos de piel fina, no pigmentada, con 0.5 y 1 ml de cultivo en caldo de 24 horas de incubación a 37° C y se ha notado antes de las 24 horas, la zona indurada, rubefacción superficial y coloración rojo-violácea, con escasa pérdida de sustancia en el punto inoculado. Posteriormente se forma un absceso fluctuante, que por lo general se abre espontáneamente, posiblemente favorecido por acción mecánica; en el punto abierto se forma una escara. Si se retira la escara y se elimina el pus se produce rápida reparación de la lesión. En interesante señalar que los cultivos directos y de enriquecimiento del pus formado, extraído entre 4 y 6 días de la inoculación, suelen permanecer estériles, (controles aerobios y anaeróbicos). En una ocasión se halló una contaminación accidental en un absceso en donde, además de *Sh. equuli*,

pudo aislarse una bacteria fusiforme anaerobia morfológicamente distinta de *F.necrophorum*.

Intraperitoneal: (Dosis 1|2, 1 y 2 ml).

Solamente la dosis de 2 ml produce la muerte de algunos animales la que por lo general ocurre antes de 30 horas. En la autopsia se comprueba que los ganglios superficiales están algo aumentados y hemorrágicos, en el punto de inoculación los tejidos se encuentran inflamados y hemorrágicos. Hay derrame sero-hemorrágico-viscoso en la cavidad abdominal. Las vísceras en general se presentan congestionadas, el peritoneo está engrosado e infiltrado (peritonitis). En el intestino grueso se presentan zonas hemorrágicas; entre las ansas intestinales el exudado viscoso determina la formación de pseudoadherencias. En el estómago e intestino delgado se alojan gases y hay contenido líquido viscoso. Los ganglios mesentéricos ligeramente aumentados de tamaño y hemorrágicos. Bazo e hígado algo aumentados, la superficie humedecida por el exudado peritoneal; al tocar con los instrumentos se forman «hilos» debido a la viscosidad. Riñones algo aumentados, la vejiga presenta algunas petequias y pequeñas hemorragias difusas, las cápsulas suprarrenales congestionadas y con pequeñas zonas hemorrágicas. Aparato genital femenino intensamente congestionado especialmente el cuerpo y cuernos del útero. En la cavidad torácica hay derrame serosanguinolento, los pulmones presentan color rosado con zonas hemorrágicas. Si se coloca un trozo de pulmón en agua, éste flota. Los retrocultivos demuestran que *Sh. equuli* se encuentra en el exudado peritoneal y en el interior del útero. Permanecen estériles los cultivos efectuados a partir del bazo, hígado, pulmón, sangre, riñón, exudado torácico y médula ósea.

4) *Cerdo* (Lechón de 30 días).

Subcutáneo: (Dosis 2 ml). No hay reacción local, el animal permanece aparentemente normal.

5) *Caballo* (1 1|2 año):

Subcutáneo: (Dosis 3 ml).

Después de 24 horas hay decaimiento, anorexia, materias fecales blandas, en el punto de inoculación se palpa una induración alojada entre la piel y la masa muscular, de aproximadamente 5 cm de diámetro, la zona correspondiente presenta calor y el animal acusa dolor a la presión suave. Después de 48 horas el sujeto come, las materias fecales son normales, el punto inoculado presenta calor y hay dolor, la piel forma pequeña elevación sobre la base indurada y a la presión suave se nota el comienzo de una colecta líquida. A las 96 horas se presenta un absceso

fluctuante, circunscripto, con elevación de alrededor 2 cm con respecto al nivel normal de la piel. Al puncionar se extrae con facilidad pus amarillento líquido, mal ligado (cortado), algo filante, inodoro. Al 6° día el absceso se abre espontáneamente, posiblemente por causa mecánica y el pus dreña, posteriormente cesa la salida de pus, se forma tejido de granulación y después de 20 días hay cicatrización. En otros animales se forma el absceso, pero este no llega a abrir espontáneamente. Mientras la infección es activa (10 primeros días) el ganglio submaxilar está ligeramente aumentado de tamaño. Los retrocultivos a partir del pus indican la presencia, en cultivo puro de *Sh. equuli*.

Endovenosa: (Dosis 3 ml). Animal de alrededor de 10 años de edad. A las 24 horas el punto de inoculación se encuentra aparentemente normal, el sujeto presenta a las 3 horas de inoculado ligera hipertermia durante aproximadamente 6 horas, en este tiempo el pulso está algo acelerado y hay aumento de los movimientos respiratorios. El apetito se conserva. Durante algunos días se presentan modificaciones de pulso, temperatura y movimientos respiratorios. Después de varios días el sujeto enflaquece ostensiblemente.

6) *Bovino* (1 1/2 año):

Subcutáneo: (Dosis 3 ml).

A las 24 horas alrededor del punto inoculado hay pequeña pérdida de la porción superficial de la piel, es poco visible este detalle. Al palpar se nota espesamiento que no alcanza a producir elevación y que se mantiene varios días. La punción demuestra que no hay colecta purulenta o de otra naturaleza. No hay calor ni dolor local. Lentamente la parte indurada va desapareciendo.

7) *Perro*:

Subcutáneo: (Dosis 2 ml.) No hay reacción local ni general, los sujetos permanecen aparentemente normales.

Intraperitoneal: (Dosis 2 ml.) No hay reacción local ni general, los sujetos permanecen aparentemente normales.

8) *Paloma*:

Subcutáneo: (Dosis 1 1/2 ml.) A las 48 horas hay rubefacción; debajo de la epidermis y sin elevarla se aprecia la formación de placas amarillentas formando islotes. A las 72 horas la piel está íntegra, debajo se nota color violado en una extensión aproximada de 0,5 cm<sup>2</sup>. Posteriormente se forma una costra que al retirarla pone en descubierto una zona ulce-

rada roja, y húmeda, que cicatriza lentamente. El animal no aparece muy afectado, conserva el apetito y vivacidad.

9) *Rata:*

Subcutáneo: (Dosis 2 ml.) A las 24 horas, se presenta en el punto inoculado infiltración consistente debajo de la piel de aproximadamente 3 cm. de diámetro. Posteriormente la zona se normaliza sin que se forme absceso o se altere la piel, Los animales permanecen en apariencia normales.

Intraperitoneal: (Dosis 2 ml.) A las 24 horas, aparentemente normal. En el punto inoculado no se notan alteraciones. En los días sucesivos se comprueba marcado enflaquecimiento progresivo. El apetito está conservado.

10) *Embrión de pollo:*

La inoculación de embriones de pollo, de 9 a 10 días de edad, por ruta intraalantoides, a la dosis de 0,025, 0,05 y 0,1 ml. de cultivo en caldo infusión de 6 horas de incubación a 37° C., no afecta la vitalidad de los mismos.

III) ESTUDIO BACTERIOLÓGICO DE LOS CULTIVOS 3<sup>4</sup>, c y d<sup>1</sup> (Representantes del «Grupo Paracoli»).

a) *Morfología:*

Los cultivos de 24 horas incubados a 37° C. desarrollados sobre agar infusión de carne son pleomórficos. Se presentan formas cocoides y cocobacilares de tamaño promedio  $0,5 \mu \times 1 \mu$ - $1,5 \mu$ , algunos bastones cortos de hasta  $3 \mu$  y algunos elementos largos y curvados de alrededor  $20 \mu$ .

La movilidad es escasa y algunos cultivos se presentan inmóviles. No se forman esporas ni cápsulas.

b) *Tinción:*

Los cultivos en agar infusión de carne de 24 horas de incubación a 37° C. no tienen gran afinidad tintórea por los colorantes básicos. Algunos cultivos presentan predominio de formas bipolares. No toman el Gram y no son ácido-alcohol resistentes.

c) *Cultivos:*

1) *Agar infusión de carne:* (48 horas 37° C.): Desarrollan bien, aspecto transparente, superficie brillante, bordes ondulados. Desarrollo

similar al de las bacterias que pertenecen a los géneros *Escherichia* y *Salmonella*, en el estado normal. A veces en los bordes se presentan elevaciones de consistencia mucosa. La suspensión en solución fisiológica se hace sin dificultad permaneciendo homogénea.

2) *Agar infusión de carne semisólido*: (24 horas 37° C.): No difunde por todo el medio, a partir del trazo el desarrollo queda limitado por una tenue opalescencia que sólo se extiende 1 a 2 mm del eje principal.

3) *Agar suero y agar ascitis*: (24 horas 37° C.): Similar al cultivo en agar infusión pero algo más vigoroso.

4) *Agar sangre de caballo*: (24 horas 37° C.): Se forma una pátina blanco-grisácea brillante de borde ligeramente ondulado, no hay hemólisis.  $\alpha$  o  $\beta$ , después de 3 días de incubación el medio adquiere un tinte bastante característico que recuerda al que posee el chocolate.

5) *Agar Sabouraud*: (24 horas 37° C.): Se observa desarrollo tenue, brillante y transparente. No aumenta por ulterior incubación.

6) *Agar Mac Conkey*: (24 horas 37° C.): Desarrollo poco vigoroso de superficie rugosa, borde irregular, color rojo.

7) *Agar desoxicolato citrato*: (8 días 37° C.): No se observa desarrollo.

8) *Agar con verde brillante*: (Kristensen, Lester y Jürgens): Después de 8 días de incubación a 37° C., no se observa desarrollo.

9) *Agar Wilson-Blair*: (8 días 37° C.): No se observa desarrollo.

10) *Agar blando glucosado 1 ‰*: (48 horas 37° C.): Desarrollo en superficie y en profundidad. Colonias de 0,5 mm de diámetro, forma de disco.

11) *Papa glicerizada*: (24 horas 37° C.): Pátina color amarillo limón, poco elevada, de superficie brillante.

12) *Agar glicerinado al 5 ‰*: Desarrollo similar al que se obtiene en agar suero.

13) *Colonias en agar infusión*: A las 24 horas de incubación a 37° C. las colonias alcanzan, cuando están bien aisladas, hasta 4 mm de diámetro; son circulares y a la luz transmitida se aprecian varias bandas concéntricas. Esta diferenciación aparece después de las 24 horas. Algunas colonias se han presentado con el centro más claro y borde blanquecino, (Fotos Nos. 7 y 8) muy característico. Se observan colonias de 0,5 mm de diámetro, redondas y lisas.

14) *Colonias en agar suero*: Similar a lo que ocurre en agar infusión, a veces suelen presentarse 2 ó 3 colonias englobadas en una cápsula mucoide (Foto N° 6).

15) *Caldo infusión de carne*: (24 horas 37° C.): Hay enturbiamiento uniforme, no se forma velo y se aprecia sedimento que por agitación se desintegra con facilidad.

16) *Caldo suero*: (24 horas 37° C.): Hay desarrollo granular, preferentemente adosado a una porción de la pared interior del tubo, el sedimento es abundante y granular. No se forma velo.

17) *Caldo hígado*: (24 horas 37° C.): Enturbia uniformemente, no se forma velo. El sedimento es granular.

18) *Caldo con selenito ácido de sodio*: (8 días 37° C.): No se aprecia desarrollo.

19) *Caldo tetrionato*: (8 días 37° C.): Desarrolla pobremente.

20) *Caldo con tetrionato y verde brillante (Müller-Kauffmann)*: Después de 8 días de incubación a 37° C., no se aprecia desarrollo.

21) *Caldo infusión con trozos de carne*: (24 horas 37° C.): Enturbia originando sedimento blanquecino de fácil desintegración por agitación.

22) *Agua peptonada*: (24 horas 37° C.): Enturbia ligeramente, no hay velo ni depósito.

23) *Caldo glicerinado 5 ‰*: (48 horas 37° C.): Enturbia uniformemente sin originar velo. Escaso depósito.

d) *Relaciones con el oxígeno*: Desarrolla bien en aerobiosis y en anaerobiosis.

e) *Relaciones con el pH*: Desarrolla entre pH 5,0 y 9,0.

f) *Cromogénesis*: En los medios estudiados produce pigmento amarillo limón solamente en papa glicerinada.

g) *Relaciones con la temperatura*: Óptima 37° C., escaso desarrollo a 6° C. y temperatura ambiente; nulo a 44° C.

h) *Propiedades bioquímicas y fisiológicas*

1) *Acción sobre la leche tornasolada*: Hay rápida formación de ácido; después de 4 a 6 días de incubación a 37° C., el tornasol es reducido. No se comprueba formación de coágulo hasta alrededor del 15° día.

2) *Acción sobre los nitratos*: (24 horas 37° C.): Reduce a nitritos.

3) *Rojo de Metilo*: (48 horas 37° C.): Positiva.

4) *Acetil-Metil-Carbinol*: (48 horas 37° C.): No produce,

5) *Desarrollo en medio de Koser*: (8 días 37° C.): No desarrolla.

6) *Producción de SH<sub>2</sub>*: Débilmente positiva.

7) *Producción de indol*: Negativa.

8) *Hemólisis en agar sangre de caballo*: Negativa.

9) *Acción sobre la gelatina*: (30 días 37° C.): No licua.

10) *Medio «tamponado» con urea*: (Prueba R. S. S.): No desarrolla.

11) *Medio semisólido-lactosa-urea-doble indicador*: En los primeros 6 días de incubación a 37° C. no modifica el color, entre el 6° y 10° día se presenta coloración rosada en la parte superior, entre el 20° y 30° día, color rojo débil en toda la columna del medio.

12) *Producción de catalasa*: Positiva.

13) *Caldo Mac Conkey*: Enturbia discretamente, entre 5° y 8° día el medio se decolora algo. No se forma gas.

14) *Pruebas de fermentación*: Produce ácido y en forma débil, tardía e inconstante, a veces una pequeña burbuja de gas en los siguientes medios azucarados: glucosa, sacarosa, galactosa, manita, melibiosa, levulosa, trehalosa, arabinosa, xilosa, maltosa, ramnosa, celobiosa y manosa. En foma inconstante débil y tardía, produce ácido en: salicina, rafinosa y lactosa. No modifica las siguientes sustancias: inulina, melezitosa, dulcita, eritrita, sorbita y dextrina.

i) *Reacciones serológicas*: Los cultivos desarrollados sobre agar infusión de carne (24 horas 37° C.) y suspendidos en solución fisiológica, a pesar de formar suspensiones homogéneas presentan reacción fuertemente positiva con la solución al 1/500 de tripaflavina. La selección de colonias en agar infusión de carne no permite recuperar cultivos que presenten las características adecuadas para su estudio serológico. Por otra parte los cultivos fueron probados con distintos sueros aglutinantes anti-salmonelas y anti-paracoli, en pruebas de aglutinación por «toques», presentando reacción positiva con casi todos ellos pero estando las mismas desprovistas de significado diagnóstico.

j) *Poder patógeno*: Se inocularon suspensiones en solución fisiológica, procedentes del lavado de cultivos de 24 horas de incubación a 37° C, hasta una opalescencia similar al tubo N°. 2 del nefelómetro de Mac Farland.

1) *Laucha*: (20-25 g.): Dosis 0,25 ml. Por ruta subcutánea e intraperitoneal, los animales sobreviven después de presentar ligero decaimiento durante las primeras 10 horas, traducido por anorexia, quietud y erizamiento de los pelos. Posteriormente permanecen aparentemente normales.

2) *Cobayo*: (200-350 g.): Dosis 0,5 ml. Por vía subcutánea e intraperitoneal, permanecen en apariencia normales.

3) *Conejo*: (1,500-2,000 g.): Dosis 2 ml.:

Subcutáneo: A las 24 horas ligera rubefacción y en el punto inoculado escasa elevación; a las 48 horas el sujeto se encuentra aparentemente normal.

Endovenosa: No se presentan alteraciones.

4) *Caballo*: (1 1/2 año): Dosis 3 ml.:

Subcutáneo: No se presentan alteraciones salvo una zona indurada en el punto inoculado que se mantiene durante 4 a 5 días. posteriormente puede formarse un absceso que se abre espontáneamente.

5) *Bovino*: (2 años): Dosis 3 ml.

Subcutáneo: Se forma una zona indurada en el sitio inoculado que posteriormente retrocede después de 8 a 12 días.

## CONSIDERACIONES GENERALES

En el presente trabajo se ha adoptado la designación *Shigella equuli* (VAN STRAATEN)<sup>1</sup> DIMOCK, EDWARDS Y BRUNER (6), que se entiende es provisoria, pues la validez de la designación genérica se presta a discusión. Por el momento no se harán consideraciones «in extenso» sobre este particular, que ha de ser motivo de otro trabajo.

Por lo que se refiere al diagnóstico bacteriológico de *Sh. equuli*, este permitió excluir los microorganismos que podían dar motivo a error. Comparando los resultados que se citan en este estudio, con los referidos por otros investigadores (6) (7) (8) (11) (13), se observa que hay marcada coincidencia en todos los puntos fundamentales. El análisis de los resultados obtenidos en las pruebas de poder patógeno realizadas con animales de laboratorio, permite constatar diferencias que podrían ser debidas al hecho de haber realizado las experiencias con cultivos de reciente aislamiento y que se traducen por la aparente actividad flebítica-trombosante observada en los pabellones auriculares de varios conejos, destinados a la preparación de sueros diagnósticos, como así también por la probable acción dermonecrótica-ulcerativa de algunos cobayos inyectados por la vía subcutánea. Estos hechos son indicadores de que este cultivo posee actividad agresora, de la que no se han encontrado precisas referencias en la bibliografía consultada y que merece ser estudiada más intensamente.

Con respecto a las pruebas bioquímicas, se hace resaltar que este microorganismo produce, dentro de las primeras 24 horas de incubación a 37° C., hidrólisis de la urea, la que se pone de manifiesto en el medio que se ha recomendado para la caracterización de colonias sospechosas formadas por algunas bacterias intestinales (16). En este medio, que contiene urea, lactosa y los indicadores de Andrade y azul de timol, se produce viraje hacia el color azul, que se inicia aproximadamente a las 12 horas de incubación a 37° C.; se aprecia que, mientras el medio permanece azul, el trazo, especialmente en la parte superior y después de 48 horas presenta tonalidad amarillenta, forma ésta, de reaccionar, que no es compartida, salvo *Sh. alkalescens*, por otros integrantes del género *Shigella*. Tampoco el cultivo estudiado se multiplica en el medio fuertemente «tamponado» de Stuart y colaboradores (22), a diferencia de las

<sup>1</sup> Por lo que se refiere a *Sh. equuli*, el trabajo original de *van Straaten*, que corresponde a la primera designación binomial y que fué publicado en 1918, no se ha podido aún consultar; las fuentes de información están representadas por el *Bergey's Manual* (1948) y la publicación de Dimock, Edwards y Bruner (1947).

bacterias del género *Proteus* que en este último medio hidrolizan rápidamente urea. Se recuerda que algunos representantes del «Grupo Paracoli», incluso anaerogénicos, reaccionan en ambos medios en forma similar a como lo hace *Shigella equuli*.

Otra propiedad digna de ser destacada es que el cultivo de *Shigella equuli* estudiado, no produce catalasa, característica que serviría para explicar su limitada vitalidad, especialmente en algunos cultivos aerobios de los estados «S», desarrollados sobre medios sólidos. Dentro del género *Shigella*, algunos de sus integrantes, entre ellos *Shigella dysenteriae*, también poseen esta propiedad, aunque la gran mayoría son productores de catalasa. Puede agregarse que los integrantes del «Grupo Paracoli» que se ha tenido oportunidad de estudiar (15), son catalasa positivos.

Por lo que se refiere a la vitalidad en los medios comunes de laboratorio la misma no es tan limitada, ya que después de 2 meses, cultivos abandonados a temperatura ambiente desarrollados en agar o caldo infusión de carne permiten obtener subcultivos característicos. La desecación que ocurre en los medios sólidos y el tiempo en que ésta se cumple parecen influir también en la muerte prematura de las células, sin embargo los cultivos jóvenes rápidamente desecados y conservados en el vacío, a baja temperatura resisten algo más de 2 meses en estas condiciones.

Con respecto al representante del «Grupo Paracoli» estudiado, debe expresarse: que constituye ardua tarea asignar ubicación sistemática a las bacterias que comúnmente se las designa como pertenecientes al «Grupo Paracoli». Los intentos taxonómicos realizados por diversos autores, hasta este momento, no cuentan con gran aceptación, es así que en el último manual de Bergey (1) figura como apéndice, sólo una parte de las sugerencias de Borman y colaboradores (2) quienes a favor de una gran experiencia, han propuesto, sobre la base de propiedades morfológicas, tintoriales y bioquímicas, una clasificación que merece ser tenida en cuenta. Gran parte de los estudios de los investigadores últimamente citados se deriva de los resultados aportados previamente por Stuart y colaboradores (21) quienes efectuaron también un estudio taxonómico alentador acerca de estos microorganismos. Por lo que se refiere a lo aquí actuado, se ha recurrido con preferencia a estos trabajos como fuente de información, con el propósito de ubicar al microorganismo en estudio, el que por sus características, no coincide con ninguno de los señalados por los autores citados. Las diferencias encontradas con respecto al género *Paracolobactrum* Borman, Stuart Wheeler (1944) y a *P. coliforme* Borman, Stuart y Wheeler (1944) en particular, podrían quizá justificar la asignación de una nueva categoría taxonómica. Como

carácter sobresaliente el cultivo estudiado estaría comprendido dentro de los «paracoli anaerogénicos» en el concepto de Stuart y col., debido a que preferentemente produce ácido solamente en los medios con los azúcares que fermenta, aunque en algunos cultivos se presenta, en forma extremadamente inconstante y tardía una pequeña burbuja de gas, que se forma en los medios con levulosa, ramnosa, lactosa, rafinosa y glucosa. La formación débil inconstante y tardía de una burbuja gaseosa en algunos medios con azúcares, no coincide por lo tanto con la definición del género *Paracolobactrum*; salvo la fermentación de lactosa, las especies que forman este género, son activas productoras de ácido y gas. En lo que se refiere a las propiedades bioquímicas diferenciales de significación taxonómica, el cultivo en estudio difiere de *P. coliforme* debido a que no produce indol. Dado que no es posible asignarle ubicación sistemática precisa, este es un problema que queda a resolver. En el presente estudio se consigna provisoriamente como integrante del «Grupo Paracoli» que por sus características no coincide con los datos aportados por Stuart y colaboradores y por Borman y col.

En el representante del «Grupo Paracoli» estudiado, se destacan el polimorfismo y el aspecto bipolar de los cultivos desarrollados en caldo y teñidos, previa fijación con alcohol-éter; con solución de azul de metileno. Los cultivos en general son poco característicos en los medios comunes del laboratorio. Un tipo de colonias cuya descripción corresponde a las Fotos Nos. 7 y 8 y que fuera obtenido con facilidad en los primeros aislamientos, se fué perdiendo y no se ha podido recuperar en los sucesivos aislamientos. El desarrollo en agar sangre se caracteriza por presentar un cambio del color hacia el «chocolate». En las pruebas fermentativas, además de lo que ya se ha citado a propósito de la formación de gases en los medios con azúcares diversos, es interesante señalar el comportamiento frente a la lactosa, ya que este azúcar es fermentado en forma tardía e inconstante, se ha podido comprobar que a partir de un cultivo es posible obtener descendientes «lentos fermentadores» y aún negativos, a su vez de cada uno de éstos el fenómeno puede repetirse. Este especial comportamiento tiene valor, si se considera que la acción fermentativa sobre lactosa representa en el momento actual una propiedad de importancia para la clasificación de bacterias. En las pruebas de poder patógeno experimental no se han podido revelar propiedades agresoras en los cultivos ensayados, esto desde luego no autoriza a sostener que en condiciones especiales pueda poseerlo. Desafortunadamente los datos obtenidos del lugar en donde se produjo el aborto son limitados como para permitir apoyar alguna sospecha acerca de la probable interpretación que como infección natural pudiera darse a este hallazgo.

Acerca del significado patológico de *Shigella equuli* se debe expresar que varios investigadores extranjeros se han ocupado del tema (5) (6) (10) (11) (12) (13) (17) (19) (20) y todo parece indicar que hasta el momento actual no existe controversia en asignar a este microorganismo la etiología de algunos casos de enfermedades infecciosas sumamente serias que recaen en equinos de corta edad, cuyos cuadros clínicos corresponden principalmente a las septicemias de los recién nacidos o a las artritis de los potrillos y sus distintas formas clínicas. Todos estos padecimientos acusan índices de mortalidad verdaderamente alarmantes y las medidas terapéuticas son hasta este momento muy poco alentadoras. Si bien existe acuerdo acerca del significado etiológico de *Sh. equuli*, las opiniones se hallan divididas con respecto a la forma en que se produce la infección; algunos investigadores sostienen que la misma es extrauterina en cambio otros afirman que puede ser intrauterina (10) (17) (19) entre estos últimos se encuentra Dimock y sus colaboradores (6) de la Kentucky Agricultural Experimental Station, quienes con gran experiencia de estos problemas han podido afirmar, sobre la base de una serie de hechos, «que *Shigella equuli* se ha podido aislar del exudado uterino de yeguas madres en un número limitado de casos, que se ha podido comprobar signos de infección en animales recién nacidos, que los resultados obtenidos con las medidas tendientes a evitar la presentación de casos y conseguir el dominio de la infección son desalentadores y que *Shigella equuli* ha sido aislada de potrillos muertos al nacer y de infecciones pre-natales». Nuestro presente caso permitiría sospechar en una posible infección intrauterina por *Shigella equuli* a lo que debemos agregar juntamente con un representante del «Grupo Paracoli». De momento estamos incapacitados para informar si el microorganismo aislado solo o en combinación es capaz de inducir al prematura expulsión del feto. El hallazgo de *Shigella equuli* juntamente con *E. coli* ha sido señalada por autores extranjeros como agentes etiológico de septicemias y poliartritis en potrillos (19) (6).

En nuestro país y mientras se escribía el presente trabajo, apareció una publicación (9) que se refiere a un ensayo terapéutico en casos de poliartritis de potrillos, donde se hace constar el hallazgo de *Sh. viscosa* por primera vez en el país, aunque por el carácter de divulgación del mismo no se aportan los datos bacteriológicos. En conocimiento de que el trabajo completo se había entregado para su publicación se solicitó un duplicado del mismo<sup>1</sup>. Al efectuar el análisis de los datos bacte-

<sup>1</sup> El autor agradece al Dr. C. Orliacq la entrega efectuada.

riológicos consignados en el mismo, se ha llegado a la conclusión de que los casos por estos autores estudiados, podrían ser debidos a *Shigella viscosa*, ya que no queda totalmente eliminada la posibilidad de que el microorganismo supuesto en causa pueda corresponder a otra especie microbiana parecida a *Sh. equuli*.

La demostración de que algunos integrantes del «Grupo Paracoli»<sup>1</sup> están dotados de poder patógeno en condiciones naturales o experimentales para el hombre y los animales, ha sido sustentada por algunos autores (4) (18) (22). En nuestro país pocas referencias existen acerca de la actividad patológica en estas bacterias, el autor ha podido observar que algunos «fermentadores lentos de lactosa» poseen marcado poder patógeno experimental en animales de laboratorio (15), también ha comprobado<sup>2</sup>, en neumoenteritis de terneros, la presencia predominante de bacterias del «Grupo Paracoli» en las materias fecales.

Sobre la probable ingerencia del microorganismo que motiva este comentario en el aborto producido, en combinación con *Sh. equuli*, ya se ha tratado en párrafos anteriores. Con respecto al posible papel, que por separado puede tener en patología equina, nada se puede adelantar, salvo que en las pruebas experimentales esta bacteria no ha presentado poder patógeno evidente, aunque ello no autoriza a sostener que no lo posea, ya que se ha expresado que las pruebas de poder patógeno se encuentran dificultadas mientras no se disponga de adecuados animales de experiencia (22).

#### CONCLUSIONES

El análisis de los resultados obtenidos en las experiencias anteriormente señaladas, permite deducir las siguientes conclusiones:

1ª. — De la médula ósea de un feto equino abortado en un haras de la Provincia de Buenos Aires, se aísla *Shigella equuli* y un integrante del «Grupo Paracoli» cuya precisa ubicación sistemática queda a resolver.

2ª. — El hallazgo simultáneo en la médula ósea fetal equina de las bacterias aludidas, no concuerda exactamente con ninguna referencia de la bibliografía consultada.

3ª. — El cultivo de *Sh. equuli* estudiado, coincide en la morfología,

<sup>1</sup> Los términos «Grupo Paracoli», encuadrados en la 8ª. Recomendación del Código Internacional de Nomenclatura Bacteriológica (3), se emplean para designar a organismos relacionados entre sí, cuyas características se tratan en publicaciones citadas en la bibliografía (2) (15) (21).

<sup>2</sup> Inédito.

vitalidad y resistencia, propiedades tintoriales, de cultivo, bioquímicas, serológicas y patogénicas con las descripciones tenidas por clásicas. Con respecto al poder patógeno se comprueban en algunos cobayos y conejos inoculados subcutáneamente y por vía venosa, alteraciones tisulares superficiales hasta ahora no referidas.

4<sup>a</sup>. — En el embrión de pollo, y a diferencia de otros representantes del género *Shigella*, el cultivo de *Sh. equuli* estudiado carece de poder patógeno.

5<sup>a</sup>. — Quedan agregadas como pruebas de valor para el diagnóstico bacteriológico de *Sh. equuli*, la propiedad de hidrolizar urea y la ausencia de producción de catalasa.

6<sup>a</sup>. — La penicilina, la estreptomina y el sulfatiazol, presentan acción bactericida «in vitro» sobre el cultivo de *Sh. equuli* estudiado; por otra parte, las soluciones de ácido salicílico son comparativamente mucho menos eficaces.

#### RESUMEN

En el presente trabajo se dan a conocer los resultados de un estudio bacteriológico efectuado sobre cultivos obtenidos de la médula ósea de un feto equino abortado en un establecimiento ganadero situado en la Provincia de Buenos Aires. *Shigella equuli* y un representante inconstantemente anaerogénico del «Grupo Paracoli» se identificaron en el material analizado. Según la bibliografía consultada no aparecen referencias que coincidan con este tipo de hallazgo simultáneo.

El cultivo de *Shigella equuli* aislado, produce lesiones en el punto de inoculación, en algunos animales de laboratorio y como característica también digna de destacarse figura la falta de poder patógeno para el embrión de pollo cuando se lo inocula por la ruta intra-alantoidea. Este cultivo hidroliza urea cuando el desarrollo se efectúa en agar semisólido con lactosa, urea y doble indicador de pH y además no produce catalasa cuando desarrolla en agar infusión de carne. Marcada actividad bactericida ejercen «in vitro» la penicilina, la estreptomina y el sulfatiazol en cambio esta propiedad es escasa frente al ácido salicílico al 1 % en solución bicarbonatada.

El representante del «Grupo Paracoli» aislado, no ha podido aún ubicarse dentro de la incierta taxonomía de estos microorganismos.

## SUMMARY

In the present work are shown the results of a bacteriological study of cultures obtained from the bone marrow of a aborted equine fetus in a farm of the Buenos Aires province. *Shigella equuli* and a inconstantly aerogenic member of the «Paracoli Group» were identified in the analysed material. According to the consulted bibliography this association was never found before.

The isolated strain of *Shigella equuli* produces some dermic lesions in some laboratory animals and it has no pathogenic effect on the chicken embryos inoculated by intra-alantoid route. It hydrolises urea when cultured in a media composed of semisolid agar with lactose, urea and double indicator and does'nt produce catalase on agar infusion cultures. Penicillin, streptomycin and sulphathiazole have a powerfull bactericidal activity «in vitro», on *Shigella equuli* culture, but 1 % of salicilic acid has no bactericidal action.

It as not yet been posible to find the right place occupied by this member of the «Paracoli Group» in the complicated taxonomy of the group.

## ZUSAMMENFASSUNG

Es wird über die bakteriologischen Untersuchungen von Kulturen berichtet, welche aus Knochenmark eines abortierten Fohlens gewonnen wurden. Festgestellt wurde: *Shigella equuli* und ein inkonstant aerogenes Mitglied des «Paracoligruppe». In der nachgeschlagenen Literatur befand sich kein Hinweis auf diese Art von Auffindung.

Der aufgefundene Stamm *Sh. equuli* verursacht im Laboratoriumstier Hautschaden die scheinbar trombo-phlebitischer Natur sind. Ausserdem spaltet er Harnstoff (auf halbfestem Kulturboden mit Agar-agar, Milchezucker, Harnstoff und doppeltem Indikator); auf Fleischbrüheagar entwickelt er keine Katalase. Andere Unterscheidungsmerkmale sind: keine Pathogenitat für Hühnerembryo (intra-allantoide Einführung); starke bakterizide Wirkung von Penicillin, Streptomycin und Sulphathiazol auf die Kultur; nur schwache bakteriostatisch-bakterizide Wirkung von 1 % Salizilsäure in Bikarbonatlösung.

Das befundene Mitglied der «Paracoligruppe» konnte bis jetzt nicht in die etwas ungenaue Taxonomie der Gruppe eingereit werden. Der Stamm verhält sich vorzüglich als anaerogen.

*Agradecimientos:*

El autor deja constancia de su agradecimiento a las siguientes personas:

Dres. A. E. Riggi y R. P. Moreau, Director General y Vice-Director Jefe del Departamento de Botánica, respectivamente, del Instituto Nac. de Investigación de las Ciencias Naturales, por el interés y apoyo prestado durante la realización de los trabajos; por idénticos motivos al Sr. Director del Instituto de Bacteriología de la Fac. de Agr. y Vet. de Bs. Aires. Dr. Santiago S. Quiroga.

Dr. A. J. Cifoletti y Sta. A. Caría, por la ayuda prestada durante parte de las experiencias realizadas.

Dres. A Durlach, G. Garbers y Sr. W. H. Patridge por la traducción del resumen a los idiomas alemán e inglés.

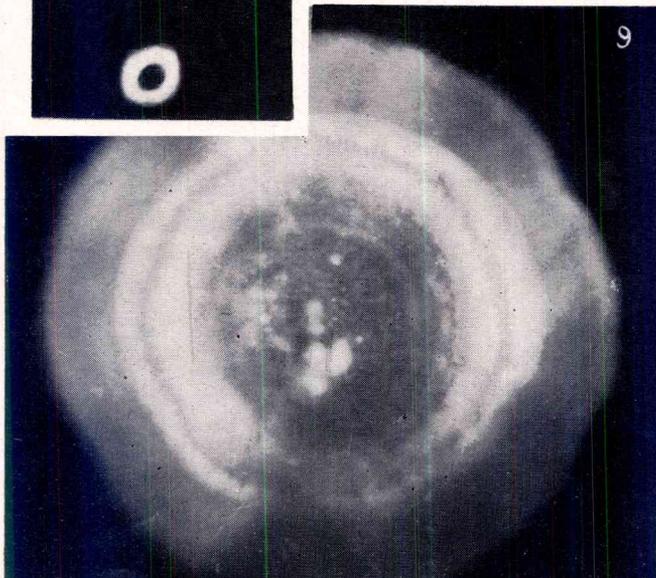
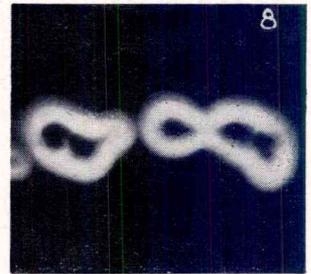
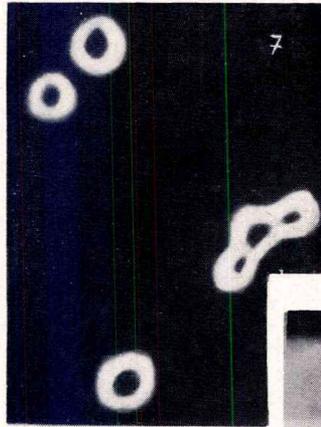
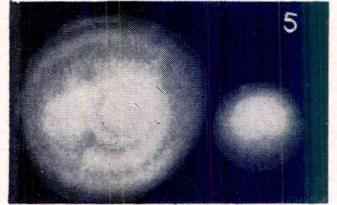
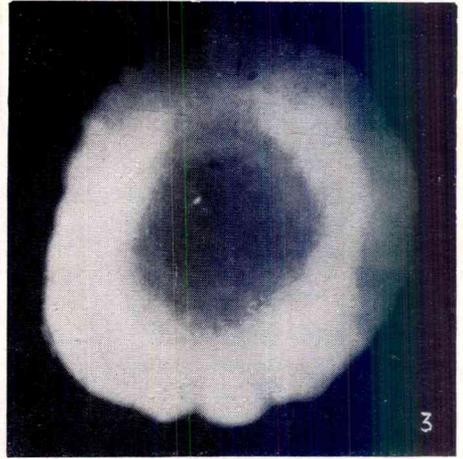
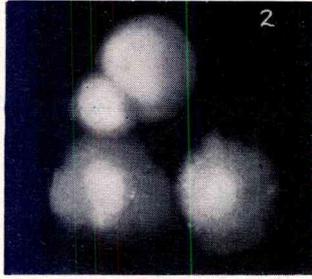
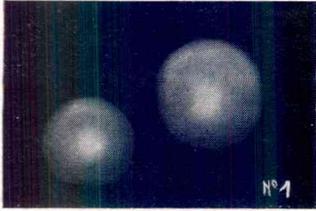
Sr. P. A. Haedo por las fotografías que ilustran el texto.

BIBLIOGRAFIA

1. BREED, R. S., MURRAY, E. A. C. and PARKER-HITCHENS, A., 1948. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* —Sixth Edition— Williams and Wilkins Co. Baltimore.
2. BORMAN, E. K., STUART, C. A., and WHEELER, F. M., 1944 *Taxonomy of the family ENTEROBACTERIACEAE*. — Journ. of Bact., LXVIII: 351-367.
3. BUCHANAN, R. E., JOHN-BROOKS, R. ST., and BREED, R. S., 1948, *International bacteriological code of nomenclature*. — Journ. of Bact., LV, 287-306.
4. COPE, J. E., and KILANDER, K., 1942. *Study of atypical enteric organisms of the Shigella group*. — Am. Journ. Pub. Health., XXXII, 352-354.
5. DIMOCK, W. W., EDWARDS, P. R. and BULLARD, F., 1928. *Bact. viscosum equi. A factor in joint-ill and septicemia in young foals*. — Journ. Amer. Vet. Med. Bs. As. LXXIII, 163-182.
6. DIMOCK, W. W., EDWARDS, P. R. and BRUNER, D. W., 1947. *Infections of fetuses and foals*. — Agr. Exp. St., Univ. Kentucky, Bull. N° 509, 1-39.
7. EDWARDS, P. R., 1931. *Studies on Shigella equirulis (Bact. viscosum equi)*. — Agr. Exp. St., Univ. Kentucky., Bull., N° 320, 289-330.
8. EDWARDS, P. R., 1932. *Serologic characteristics of Shigella equirulis (B. nephritidis-equi)*. — Journ. Infect. Dis., LI, 268-272.
9. ECKELL, O. A., ORLIACQ, C., y GARAGARZA, D. J., 1948. *La poliartrosis de los potrillos. Su tratamiento por la sulfaguanidina y el saliciclo de sodio inyectable*. — Rev. Vet. Fom. Equino, Bs. Aires, VIII, 35-38.
10. GUNNING, O. V., 1947. *Joint-ill in foals (Pyosepticemia) with special reference to the prophylactic treatment of the foal at birth*. — The Vet. Journ., CIII, 47-67.
11. HIRATO, L., 1939. *Studies on Shigella equirulis (Bacterium pyosepticum)*. The Jap. Journ. of Vet. Sci., I, 410-412.
12. LAUGHOFF, L., 1920. *Infektion mit dem Bakterium pyosepticum viscosum equi unter besonderer Berücksichtigung der makroskopischen pathologisch-anatomischen Erscheinungen*. — Berlin. tierärztl. Wchnschr, XXXIX, 358-384.
13. MAGNUSSON, H., 1919. *Joint-ill in foals: Etiology*. — Journ. Compar. Path. and Therap., XXXII, 143-152.

14. MONTEVERDE, J. J., y FERRAMOLA, R., 1942. *Investigación de bacterias del género Salmonella en el líquido cloacal de la ciudad de Buenos Aires.* — Anales Sociedad Científica Argentina, LXXII, 417-452.
15. MONTEVERDE, J. J., 1943. *Relaciones serológicas entre las bacterias del género Salmonella y las bacterias «Fermentadoras lentas de lactosa».* — Rev. Fac. Agr. y Vet. Bs. Aires, X, 1-54.
16. MONTEVERDE, J. J., 1948. *Medio de cultivo semisólido con lactosa, urea y doble indicador para seleccionar salmonellas y shigelas.* — La Semana Médica, Bs. Aires, LV, 847-848.
17. PANISSET, M.L., 1920. *La pyosepticémie des poulains nouveaux (Arthrite des poulains).* — Rev. Gén. Méd. Vet., XXIX, 113-128.
18. PARR, L. W., 1939. *Coliform bacteria.* — Bact. Rev., III, 1-47.
19. SCHOFIELD, F. W., 1940. *Joint-ill (pyosepticemia) in foals.* — Vet. Bull. Lederle, IX, 127-131.
20. SNYDER, M., 1925. *Eberthella viscosa (Bact. viscosum equi) etiological factor in joint-ill.* — Journ. Amer. Vet. Med. Ass., LXPI, 481-496.
21. STUART, C. A., WHEELER, K. M., RUSTIGIAN, R., and ZIMMERMAN, A., 1943. *Biochemical and antigenic relationships of the paracolon bacteria.* — Journ. of Bact., XLV, 101-119.
22. STUART, C. A., STRATUM, E., van, and RUSTIGIAN, R., 1945. *Further studies on ureasa production by proteus and related organism.* — Journ. of Bact., XLIX, 437-444.
23. CONN, H. J., y colab., 1933-1938. *Manual of Methods for pure culture of bacteria.* Committee on Bact. Technic of the Soc. Amer. Bact. Geneva, N. Y.

En la Sección Microbiología del Departamento de Botánica perteneciente al Museo Argentino de Ciencias Naturales se efectuaron los estudios, excepto los que corresponden al poder patógeno, que se realizaron en el Instituto de Bacteriología de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad de Buenos Aires.



### FOTOGRAFIAS

- Nº 1. — Colonias de *Sh. equuli*, agar infusión de carne - 48 horas a 37° C. - x 6.
- Nº 2. — Disociación de *Sh. equuli*, agar suero de caballo - 72 horas a 37° C - x 6.
- Nº 3. — Colonia gigante de *Sh. equuli*, agar infusión de carne - 72 horas a 37° C x 6.
- Nº 4. — Ulceración presentada por un cobayo inoculado con *Sh. equuli*, después de 6 días —Pera ventral— x 2.
- Nº 5. — Colonias en agar infusión de carne del representante del «Grupo Paracoli», 48 horas a 37° C - La colonia más grande presenta bandas concéntricas, en la zona periférica hay sustancia mucoide. x.
- Nº 6. — Colonias englobadas en cápsula mucoide. Representante del «Grupo Paracoli», 48 horas a 37° C en agar suero de caballo. x 6.
- Nº 7. — Representante del «Grupo Paracoli». Colonias sobre agar infusión de carne 24 horas a 37° C presentando centro transparente y reborde mucoso (aspecto de «rosquilla»). x 6.
- Nº 8. — Representante del «Grupo Paracoli» Igual que Nº 7 después de 48 horas de incubación a 37° C. x 6.
- Nº 9. — Colonia gigante del representante del «Grupo Paracoli». Agar infusión de carne. 72 horas a 37° C. Se pueden apreciar las bandas concéntricas x 6.

## Parásitos del género "Raillietina" en el *Gallus gallus* de República Argentina \*

POR EL DR. EMILIO G. MORINI \*\*

---

Entre los parásitos intestinales de las aves, los cestodos del género *Raillietina*, son muy frecuentes, conociéndose dentro de este género, numerosísimas especies. De éstas, algunas que parasitan a pollos y gallinas son consideradas como cosmopolitas o, por lo menos de gran difusión en diversos países. Nosotros uniendo esto último al hecho de que los huéspedes intermediarios más comunes de las *Raillietina* son moscas, hormigas y coleópteros que abundan prácticamente en todo el mundo, es que comenzamos a investigar las posibles especies que sospechamos con fundamento, se pudieran hallar en el intestino de pollos y gallinas en nuestro país. Como consecuencia de estas investigaciones hemos hallado tres especies de cestodos del género *Raillietina*, cuya descripción motiva el presente trabajo.

### CLASIFICACIÓN:

ORDEN *Cyclophyllidea* van Beneden 1850. FAMILIA *Davaineidae* Fuhrmann 1907. SUB-FAMILIA *Davaineinae* Braun 1900. Dentro de esta Sub-familia Fuhrmann <sup>1</sup>, coloca seis géneros con las características siguientes:

\* Trabajo realizado en la cátedra de Parasitología y Enfermedades Parasitarias.

\*\* 2do. trabajo de adscripción a la cátedra de Parasitología y Enfermedades Parasitarias; publicado a pedido de la Comisión Examinadora compuesta por los profesores Drs. Roberto L. Dios, Aníbal Da Graña y Isaías Sopena.

Un solo poro genital por anillo	}	Poros genitales regularmente alternados, raramente unilaterales; bolsa del cirro chica	<i>Davainea</i>
		P. genit. unilat. o irreg. alternados; bolsa chica	<i>Raillietina</i>
		P. genit. irreg. alternados; 6 a 20 vasos excretorios longitudinales.....	<i>Davaineoides</i>
		P. genit. { 2 coronas de ganchos.....	<i>Houttuynia</i>
		Unilater. { 3 coronas de ganchos.....	<i>Porogynia</i>
Dos poros genitales por anillo		.....	<i>Cotugnia</i>

Género *Raillietina* Fuhrmann 1920

*Sinonimia:* *Meggittia* López-Neyra 1929, *Idiogenoides* López-Neyra 1929, *Kottania* López-Neyra 1929, *Brumptiella* López-Neyra 1929.

Todos los parásitos del género *Raillietina* tienen según la descripción ya conocida, los caracteres siguientes: scólex provisto de doble corona de ganchos en forma de maza o martillo. Ventosas que llevan en sus bordes varias hileras de pequeños ganchos (espinas) caducos. Poros genitales unilaterales o irregularmente alternados. Bolsa del cirro generalmente pequeña. Testículos habitualmente en gran número. Cápsulas uterinas con uno o varios huevos.

Dentro del género *Raillietina* se hallan comprendidas numerosas especies que se agrupan en cuatro sub-géneros, división ésta que aceptan la mayoría de los autores clásicos y que es la siguiente:

*P. genital unilater.*

- Cápsulas ovígeras c/u. con varios huevos ..... *Raillietina*
- Cápsulas ovígeras c/u. con 1 solo huevo ..... *Paroniella*

*P. genit. irr. alternados*

- Cápsulas ovígeras c/u. con varios huevos ..... *Fuhrmanetta*
- Cápsulas ovígeras c/u. con 1 solo huevo ..... *Skrjabinia*

Haremos ahora un breve examen de las distintas especies de *Raillietina* de los pollos, conocidas o citadas en diversos países, luego mencionaremos lo que se conoce al respecto en nuestro país, para finalmente describir en detalle las especies estudiadas por nosotros.

Reis y Nóbrega <sup>2</sup> dicen que según Mönnig y Baylis las *Raillietina*

observadas en el *Gallus gallus dom.* son: *R. tetragona* Molin 1858, *R. echinobothrida* Megnin 1880, *R. mutabilis* Rütther 1901, *R. cohni* Baczyńska 1914, *R. penetrans* Baczyńska 1914, *R. volzii* Fuhrmann 1905, *R. grobbeni* Bohm 1925, *R. birmanica* Meggitt 1926, *R. pseudoechinobothrida* Meggitt 1926, *R. cesticillus* Molin 1858.

De estas especies mencionadas, se conocen en el Brasil, según C. Pinto <sup>3</sup>, la *R. (R) tetragona*, especie común, observada por P. S. de Magalhaes, Vaz y Pereira, la *R. (R) echinobothrida*, observada también por P. S. de Magalhaes y la *R. (R) laticanalís*.

En Chile, Tagle <sup>4</sup> dice: Revisando 300 gallinas se hallaron, entre otros parásitos internos, la *Davainea cesticillus* Molin 1858.

En Méjico, Chavarría <sup>5</sup> cita la *R. (R) tetragona* hallada por primera vez por él mismo, en 1935. Luego es observada con mayor frecuencia, lo mismo que la mosca, su huésped intermediario. La *R. (R) echinobothrida* fué hallada en aves del Valle de Méjico.

En los EE. UU. Wehr, según Biester y Devries <sup>6</sup>, entre las *Raillietina* conocidas en ese país cita: *R. tetragona*, en íleo, *R. echinobothrida* también en íleo y *R. cesticillus*, en yeyuno. Este último parásito es uno de los cestodos más comunes de las aves según Wehr y Christensen <sup>7</sup>.

En España, López-Neyra <sup>8</sup>, investigador que ha estudiado este capítulo en forma detallada y minuciosa, cita diversas especies de *Raillietina* halladas y descritas en las aves, correspondiendo a la *R. (S.) cesticillus* el 17 por ciento de los casos.

En Italia, la *R. tetragona* es hallada por Molin y Piana, según Neumann <sup>9</sup> y la *R. echinobothrida* por Piana. También está citada la *R. cesticillus*.

En Francia Molin ha citado la *R. tetragona* y la *R. cesticillus* y Megnin la *R. echinobothrida*.

En Sud Africa, Mönnig y Coles <sup>10</sup>, hallaron en la gallina 9 especies distintas de cestodos y sin dar nombres específicos, se refieren a las especies más peligrosas como a aquellas que son transmitidas por coleópteros diversos, hormigas, moscas, etc., (Las *Raillietina* seguramente entre ellas).

En Dinamarca, Turkestán, Abisinia, según Neumann, ya citado, también son conocidas estas especies.

En la República Argentina, Wolffhügel <sup>11</sup> habla de *Davainea spp.* en el *Gallus gallus domesticus*, y al año siguiente el mismo A., <sup>12</sup> habla de la familia *Davaineidae*, sub-familia *Davaineinae*, género *Davainea* Blanchard y dice «en el intestino delgado del *Gallus gallus domesticus* de Bs. Aires y sus alrededores encontré muchos representantes de este género que voy a estudiar más tarde en conjunto».

En 1939, Bacigalupo <sup>13</sup> estudiando cestodes intestinales del pollo dice que en nuestro país es muy frecuente «el parasitismo por una especie de *Raillietina*, la *R. (R.) echinobothrida* (Megnin 1881)». Las investigaciones de este autor se refieren al estudio del ciclo evolutivo de estos parásitos, como veremos más adelante.

Roveda, en 1943 <sup>14</sup> en un trabajo de estadística de los helmintos del *G. g. domesticus*, en nuestro país cita la *R. (R.) tetragona* (Molin 1858), diciendo además que dicho parásito se presenta en un 2 % de las gallinas examinadas.

Roveda y Ringuelet <sup>15</sup> en su lista de parásitos de los animales domésticos de la R. Argentina, mencionan a la especie *R. (R.) tetragona* como la única del género existente en el país.

Ringuelet, en 1948 <sup>16</sup>, publica los «Zooparásitos de interés veterinario en la R. Argentina», en que únicamente se registra la *R. (R.) tetragona*.

Teniendo en cuenta estas referencias relativamente escasas nosotros comenzamos el estudio de los parásitos intestinales del *Gallus gallus domesticus* en animales provenientes de Buenos Aires y alrededores. El resultado del mismo fué el hallazgo de *tres especies distintas del género Raillietina* y que son los siguientes:

*Raillietina (Raillietina) tetragona* Molin 1858

*Raillietina (Raillietina) echinobothrida* Megnin 1881

*Raillietina (Srkjabinia) cesticillus* Molin 1858

Este hallazgo de tres especies distintas de *Raillietina*, sólo vino a confirmar las sospechas de que, parásitos comunes en otros países y que tienen sus huéspedes intermediarios entre moscas, hormigas y coleópteros diversos, era muy posible que se encontraran parasitando también nuestros gallineros.

#### TÉCNICA

La técnica seguida por nosotros, es la habitual en la búsqueda de parásitos intestinales de las aves, lo mismo que el estudio posterior de los ejemplares hallados. Por ser tan conocidas y por hallarse detallada en los textos corrientes de la especialidad, es que omitimos su descripción.

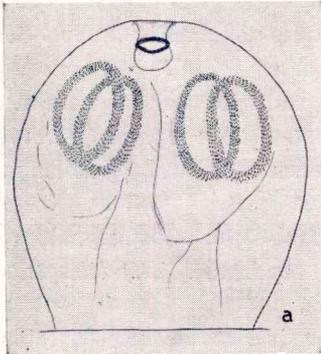
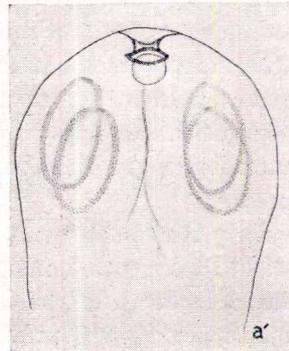
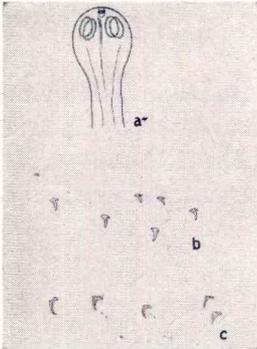


Fig. a. — Scólex. Aumento 8-5. 30. Dibujo a la cámara clara. (Original).

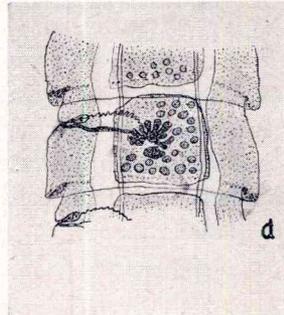


a). Scólex. Mostrando en la parte superior de las ventosas algunos ganchos caducos. Aum. 8-5.30. Dibujo a la cámara clara. (Original).

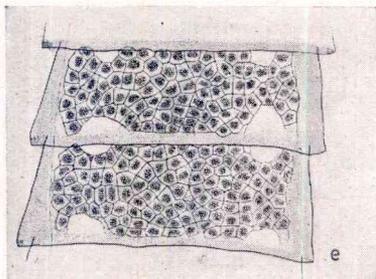


a). Scólex. 8 -2b. Dibujo cámara clara. (Original).

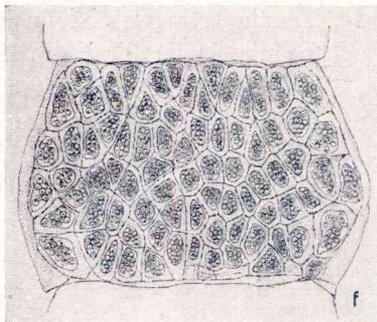
b). Ganchos de roseto. 8.-inm. Cámara clara (Original). c). Ganchos de ventosa. 8.-inm. Cámara clara (Original).



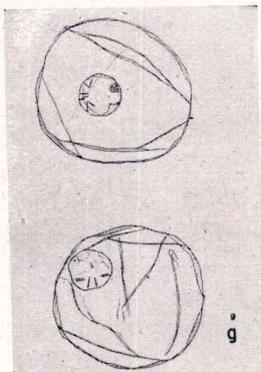
d). Proglótido maduro 8.- 5.30. Cámara clara. (Original).



e). Proglótidos grávidos (algo retraídos) 8-1b. Cámara clara. (Original).



f). Proglótido grávido (algo retraído). Mostrando las cápsulas parenquimatosas conteniendo en su interior los huevos. 8-1b. Cámara clara. (Original).



g). Huevos. 8-inm. Cámara clara. (Original).

que las oncosferas dan lugar, en esos nódulos intestinales, a formas jóvenes del parásito.

*Hospedador:* Nosotros lo hemos hallado en el *Gallus gallus domesticus* L.. En los textos de la especialidad se citan también: *G. g. bankiva*, *G. ferrugineus*, *Meleagris gallopavo* L., *Columba livia* L., *Numida mitrata* Pall.

*Localidad:* Buenos Aires.

### RAILLIETINA (R.) ECHINOBOTHRIDA MEGNIN 1881

CUADRO 2

	N. Lemaire	López-Neyra	Morini

Descripción de las especies halladas:

### RAILLIETINA (RAILLIETINA) TETRAGONA MOLIN 1858

*Sinonimia:*

*Taenia tetragona* Molin 1858

*Taenia longicollis* Molin 1858

*Raillietina* (*Raillietina*) *tetragona* (Molin) Fuhrmann 1924

*Raillietina tetragona* Lang 1929

*Kotlania tetragona* (Molin) López-Neyra 1929

*Davainea tetragona* (Molin) Blanchard 1891

*Taenia bothrioplitis* Filippi 1892

*Raillietina* (R.) *tetragona* var. *lagopodis* Baylis 1919

*Raillietina* (*Ransomia*) t. (Molin) Fuhrmann 1920

*Características del material estudiado:*

Color blanquecino, semitransparente. Se maneja con relativa facilidad. El scólex no se separa fácilmente.

*Largo total:* Variable, de 6 ½ a 27 cms. Estróbila de 500 proglótidos más o menos. *Ancho máximo:* 3 ½ mms., a los 20 cms. del scólex.

*Scólex:* Diámetro 195-405  $\mu$ . *Ventosas:* ovals. Eje mayor 138  $\mu$ . y menor 70  $\mu$ . *Rostelo:* 57  $\mu$ . de diámetro, término medio. *Ganchos:* doble corona, en número de 110. Tamaño, 7,2-7,8  $\mu$ ., término medio. *Ganchos de ventosa:* alrededor de 10 filas, cada gancho de 4,5 a 8  $\mu$ . Son espiniformes, caducos, variables de forma y tamaño.

*Cuello:* Tenue, de 0,7 mms. de largo.

*Proglótidos:* De forma trapezoidal, son mucho más anchos que largos a los 5 cms. del scólex, luego crece su diámetro longitudinal y los últimos son casi tan largos como anchos. (N. Lemaire dice que son más largos que anchos). El borde posterior de los anillos sobrepasa el anterior del siguiente. *Poros genitales:* Unilaterales, en el medio, con tendencia al medio anterior marginal. (A veces un poro se alterna y luego retorna a la unilateralidad). *Bolsa del cirro:* oval, no alcanza al nervio. *Testículos:* en número de 18 a 30. *Ovario:* lobulado. *Utero:* originando entre 60 y

Raillietina (Fuhrmanetta) pseudoechinobothrida Meggitt 1925

Raillietina (Fuhrmanetta) Stiles y Orleman 1926

Raillietina (Raillietina) echinobothrida Lang 1929

Kotlania echinobothrida López-Neyra 1931

Kotlania grobbeni López-Neyra 1931

*Características del material estudiado:*

Los ejemplares hallados por nosotros en el intestino de un pollo, eran jóvenes, inmaduros, formas no desarrolladas por lo que solamente nos fué

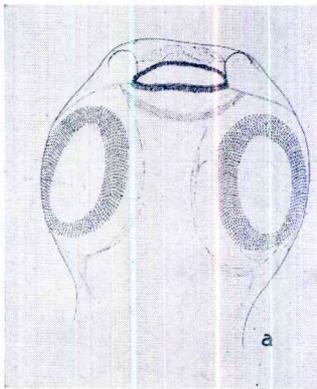
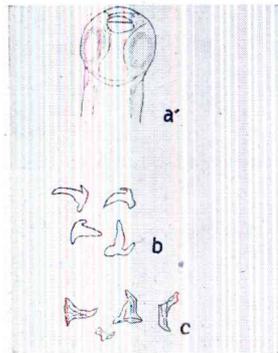


Fig. a). Scólex. 8-5.30. Dibujo a la cámara clara. (Original).



a). Scólex. 8-2b. Dibujo a la cámara clara (Original). b). Ganchos de rostellum. 8-inm. Dibujo a la cámara clara. (Original). c). Ganchos de ventosa. 8-inm. Dibujo a la cámara clara. (Original).

posible estudiar, el aspecto macroscópico y los caracteres de su scólex, ya que los proglótidos de los parásitos hallados no nos proporcionaron detalles muy claros.

*Largo:* Los ejemplares hallados tenían sólo 3 ½ a 4 cms., de largo. (López-Neyra y otros autores dan para los adultos hasta 25 cms.). *Ancho:* 800  $\mu$ . (AA., de 1 a 4 mms.).

*Scólex:* 300-380  $\mu$ . de diámetro. (AA. de 250-400  $\mu$ .). *Ventosas:* 208. 126  $\mu$ . (AA. 140  $\times$  120 ó 200  $\times$  90  $\mu$ .). *Rostelo:* 147  $\mu$ . (AA. 80-150  $\mu$ .). *Ganchos:* Doble corona, en número de 200 aproximadamente y de 11-13  $\mu$ . (AA. 200-240 y de 10-13  $\mu$ .). *Ganchos de ventosa:* 10 filas aproximadamente, irregulares. Cada gancho, 14-17  $\mu$ . (AA. 5-15  $\mu$ .).

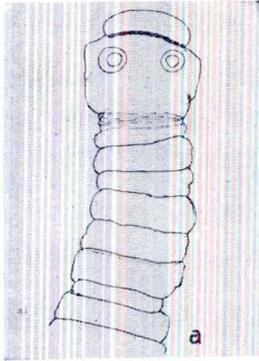
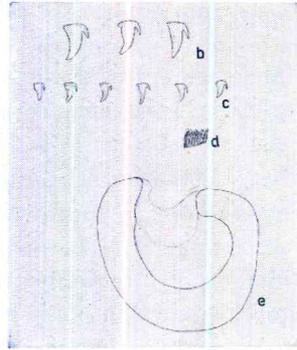


Fig. a). Scólex y primeros proglótidos. 8-2b. Dibujo a la cámara clara. (Original).



b). Ganchos de rostell. 16-inm. Dibujo a la cámara clara. (Original). c). Ganchos de rostell. 8-inm. Dibujo a la cámara clara. (Original). d). Disposición de los ganchos. 8-inm. Dibujo a la cámara clara (Orig). e). Ventosa. 8-inm. Dibujo a la cámara clara. (Original).

*RAILLIETINA (SKRJABINIA) CESTICILLUS MOLIN 1858*

CUADRO 3

	N. Lemaire	López-Neyra	Morini
Longitud total .....	9-130 mms.	Hasta 130 mms.	7 mms. (*)
Ancho máximo .....	1.5-3 mms.	1.5-3 mms.	1.2 mms.
Scólex, diámetro .....	300-600 $\mu$ .	300-600 $\mu$ .	360-480 $\mu$ .
Nº de ganchos .....	400-500	220-500	300 aprox.
Longitud ganchos .....	7-12 $\mu$ .	7,8-9 $\mu$ .	10 $\mu$ .
Ventosas .....	pequeñas	circ. 100 $\mu$ .	circ. 75 $\mu$ .
Filas gan. ventosas .....	inermes	3 filas	no obs. ganch.
Long. gan ventosas .....	—	—	—
Poros genitales .....	irreg. alt.	irr. alt. tenden- cia unilater.	irreg. alter.
Bolsa del cirro .....	120-150 $\mu$ .	120-160 $\mu$ .	—
Nº de testículos .....	18-30	20-30	—
Cáps. uterinas .....	70-85 $\mu$ .	70-85 $\mu$ .	—
Diámetro huevos .....	36-42 $\mu$ .	32-42 $\mu$ .	—
Diámetro oncosf. ....	32-35 $\mu$ .	32-25 $\mu$ .	—
Long. ganchos .....	16-23 $\mu$ .	17-22 $\mu$ .	—

(\*) Forma no desarrollada.

## CONCLUSIONES

Estudiando los cestodes intestinales del *Gallus gallus domesticus* L., en la República Argentina, hemos comprobado la existencia de tres especies distintas del género *Raillietina*, que son las siguientes: *Raillietina (Raillietina) tetragona* Molin 1858, *Raillietina (Raillietina) echinobothrida* Megnin 1881, y *Raillietina (Skrjabinia) cesticillus* Molin 1858.

Los distintos parásitos fueron hallados en pollos y gallinas procedentes de la Ciudad de Buenos Aires y alrededores.

Estimamos conveniente las investigaciones tendientes a la búsqueda de las formas larvales (cisticercoides) de estos parásitos en diversos coleópteros, moscas, hormigas, etc., que mencionamos en este trabajo, además de la necesidad de intensificar el estudio de los parásitos intestinales de las gallináceas, para poder tener una idea aproximada del grado de diseminación de esta parasitosis en nuestro país y poder así arbitrar los medios para la lucha.

## CONCLUSIONS

In studying the intestinal cestoda of *Gallus gallus domesticus* L. in the Argentine Republic, we have proved the existence of three different species of *Raillietina* genus which are the following: *Raillietina (Raillietina) tetragona* Molin 1858, *Raillietina (Raillietina) echinobothrida* Megnin 1881, y *Raillietina (Skrjabinia) cesticillus* Molin 1858.

The different parasites were found in chicks and hens coming from the city of Buenos Aires and its surroundings.

We consider convenient, investigations towards a search for the larval forms (cisticercoides) of these parasites in different insects, flies, ants, etc., which we mention in this work. We also emphasize the necessity of intensifying the study of intestinal parasites of poultry, so as to be able to have an approximate idea of the spreading propensity of these parasites in our country, and so may strike the means to combat it.

## BIBLIOGRAFIA

1. NEVEU-LEMAIRE.: *Traité d' Helminthologie médicale et vétérinaire*. París, 1936.
2. REIS, J. y NOBREGA P.: *Doenças das aves*. Sao Paulo. Brasil. 1936. p. 319.
3. PINTO.: *Zooparásitos de interesse medico e veterinario*. Río de Janeiro. Brasil. 1933.
4. TAGLE I. V.: *Boletín del Ministerio de Agricultura de Chile*. N° 10, 1936. p. 123.
5. CHAVARRÍA, M.: *Platelmintos determinados en los animales domésticos en México*. Rev. Mex. de Med. Vet. set-oct., 1939. Tomo III. N° 23, p. 13.

6. BIESTER, H. E. y DEVRIES, L.: *Diseases of Poultry*. Ames. Iowa. EE. UU. 1944. p. 679.
7. WEHR, E. E. y CHISTENSEN, J. F.: *Internal Parasites of Poultry*. Yearbook of Agriculture. U. S. Dep. of Agriculture. 1942. Washington. EE. UU. p. 1007-1040.
8. LÓPEZ-NEYRA, C. R.: *Compendio de Helminología ibérica (cont)*. Rev. Iber. de Parasitología. Tomo IV. Abril 1944. N° 2. p. 138.
9. NEUMANN, L. G.: *Parasites et maladies parasitaires des Oiseaux domestiques*. París, 1941. p. 116.
10. MÖNNIG, H. O. y COLES, J. D. W. A.: *Parasites of fowls*. Farming in South Africa. set. 1940. N° 174. v. 15. Pretoria. South Africa. p. 351.
11. WOLFFHÜGEL K.: *Rev. Centro est. agr. y vet. Año III*. Ag., set. y oct. 1910. p. 63.
12. WOLFFHÜGEL K.: *Rev. Centro est. agr. y vet. Año IV*. Abril-mayo, 1911. p. 61.
13. BACIGALUPO J.: *Hormigas del género Pheidole como huéspedes intermediarios de cestodos de la familia Davaineidae*. La Semana Médica. N° 16. Bs. As. 1939. (Apartado).
14. ROVEDA R. J.: *Helminos de nuestros Gallus gallus Linné*. Rev. Fac. Agr. y Vet., Bs. As. 1943. Tomo X, p. 290-293.
15. ROVEDA, R. J. y RINGUELET, R.: *Lista de los parásitos de los animales domésticos en la R. Argentina*. Gaceta Veterinaria. Bs. As. Año IX. 1947. N° 46. p. 67.
16. RINGUELET, R.: *Zooparásitos de interés veterinario*. Ministerio de Agricultura. Dirección de Ganadería. Dirección de Informaciones. Publicación Miscelánea. N° 281. 1948. Bs. As.
17. MÖNNIG, H. O. : *Helminología y Entomología Veterinaria*. 1947. Bs. As. p. 103.

## Experiencias sobre cruzamientos de levaduras (\*)

POR EL ING. AGR. NORBERTO J. PALLERONI (\*\*)

---

### A. — INTRODUCCIÓN

#### A. Antecedentes:

Los trabajos de SATAVA 1918, a y b, 1934 y de WINGE (1935) demostraron que las levaduras del género *Saccharomyces* presentan fases haploides y diploides sucesivas, diferenciables en muchos casos morfológicamente entre sí. El proceso de formación de las esporas va precedido de la meiosis, y las células que derivan de su germinación pueden ser haploides, pueden copular entre sí y producir cultivos diploides, o bien nacer directamente al estado diploide. Con la comprobación de que los cultivos haploides no esporulan, estos autores rebatieron la teoría, sostenida hasta entonces, de que las levaduras del género *Saccharomyces* forman esporas por partenogénesis.

WINGE (1939,a) llegó a realizar la copulación de células haploides provenientes de distintas esporas, con lo cual demostró la posibilidad de la obtención de apareamientos entre cepas diferentes de levaduras, cuyos caracteres podrían ser reunidos a voluntad en un mismo individuo. Con posterioridad, el mismo autor (1939,b) analizó catorce híbridos obtenidos con su procedimiento y estudió la segregación de algunos caracteres en las respectivas descendencias.

Sin embargo, la técnica de WINGE, consistente en poner en contacto

(\*) Extractado de la tesis profesional, realizada en los laboratorios del Instituto de Microbiología Agrícola, Facultad de Agronomía y Veterinaria, de la Uaiv. de Buenos Aires; publicada a pedido de la Comisión examinadora formada por los profesores titulares Ings. Agrs. Santos Soriano, Juan B. Marchionatto y José Testa.

(\*\*) Jefe de Trabajos Prácticos de Microbiología Agrícola.

dos esporas en una gota de medio de cultivo líquido por procedimiento de micromanipulación, impedía conocer las características de los haploides a que diera origen cada una de ellas, cuando la copulación se producía y la descendencia diploide superaba a los grupos haploides que podían subsistir aún. LINDEGREN (1934,a) propuso realizar los apareamientos reuniendo en un mismo tubo de medio líquido los cultivos haploides obtenidos previamente por los aislamientos de esporas. De esa manera, el híbrido puede ser producido a voluntad en cualquier momento, sin más trabajo que el de sembrar juntos los haploides que se conservan en cultivos separados. El mismo autor (1943,b) trazó un plan de mejoramiento genético de levaduras basado en el apareamiento de líneas consanguíneas de las que se han eliminado por selección e «inbreeding» los recesivos indeseables.

WINGE (1944) encaró el estudio de las mutaciones frecuentes en las levaduras, y que no pueden ser evitadas en el curso de las experiencias. En esa forma, procediendo por selección de la manera que suele hacerse corrientemente, se consigue aprovechar las propiedades obtenidas por las mutaciones más favorables en las transformaciones que pudieran resultar aplicables en la industria.

Finalmente, con las investigaciones realizadas por los genetistas en este tema, puede decirse que ha variado el criterio para juzgar la pureza de un cultivo pues, aún cuando el mismo provenga de una sola célula, en el caso de ser ella heterocigota, segregaría entonces en formas distintas cuando ocurre la esporulación; por consiguiente, sólo puede ser considerado puro un cultivo desde el punto de vista genético, cuando proviene de una sola espora, cuyo aislamiento exige la utilización de procedimientos de micromanipulación.

#### B. *Objeto del trabajo:*

El presente trabajo, \* ha tenido en primer término como objeto desarrollar la metodología necesaria para poder efectuar esta clase de investigaciones, especialmente respecto de la obtención de los cultivos haploides de levaduras que provienen de esporas individuales, por separación de las células madres, mediante operaciones de micromanipulación.

Con la aplicación de las técnicas desarrolladas, fué luego posible lograr la obtención de cuatro híbridos, por acoplamiento de dos cepas de levaduras diferentes, en la forma que se detalla más adelante.

\* Propuesto por el profesor Ing. Agr. Santos Soriano al que agradezco las indicaciones y sugerencias con que ha facilitado su realización.

## II. — MÉTODOS

### A. *Métodos de cultivo:*

El mosto de malta, preparado de acuerdo a la fórmula de Heeneberg, \* ha sido utilizado como medio de pre-esporulación en el método de los bloques de yeso, y para la siembra de los haploides descendientes de una espora y de los pares de haploides cuya copulación se deseaba.

El mismo medio, solidificado mediante el agregado de 2 % de agar, se usó para la conservación de las cepas y para el estudio de las colonias en cajas de Petri.

Para la fermentación de azúcares por las cepas progenitoras, se ha utilizado el agua de levadura según la fórmula de Beijerinck\*.

### B. *Métodos de esporulación:*

Para obtener la esporulación de las cepas originales y de los híbridos, han sido usados el agua de fécula de papa, según Almeida y Lacaz (1940), y el agar de Gorodkwa\*, el agar de fécula de papa, las lonjas de zanahoria y los bloques de yeso de Hansen\*. Este último método fué el que dió los mejores resultados cuando se utilizó, para humedecer los bloques, una solución buffer de ácido acético y acetato de sodio de pH4.

### C. *Micromanipulación y aislamiento de esporas:*

El aislamiento de las esporas contenidas en los ascos de las levaduras esporuladas, fué realizado por procedimientos de micromanipulación siguiendo, con algunas modificaciones, la técnica que desarrollaran Winge y Laustsen (1937).

Para las prácticas de micromanipulación se utilizó un micromanipulador Zeiss, modelo de Janse y Péterfi, acoplado un microscopio monocular Zeiss, con sistema óptico constituido por los oculares 10 X y Orthoskop (f: 9 mm.), y objetivos acromático (f: 18 mm.) y 40 (f: 4,4 mm.) de fluorita.

La cámara húmeda correspondiente al equipo de micromanipulación, se prepara convenientemente, así como los instrumentos de trabajo, constituidos por una microespátula y una micropipeta, esta última construída de acuerdo al método descrito por Soriano (1935). De una suspensión de levaduras esporuladas, se aparta un asco con ayuda de la microespátula; el mismo instrumento sirve para desgarrar la membrana

\* Citado por Soriano. (1938).

celular y liberar las esporas; se toman éstas con la micropipeta y se llevan a gotitas individuales para ser cultivadas, las cuales son depositadas previamente sobre cubreobjetos flameados. El conjunto de las esporas de un asco se cultiva en gotitas separadas sobre un mismo cubre, que se dispone sobre un porta excavado de Kock, de acuerdo al método de Lindner.

La experiencia indica que cuando no se obtiene desarrollo en gotitas al cabo de cuatro días, puede decirse que la espora ya no germinará. En algunas ocasiones la espora germina y las células resultantes no desarrollan, deteniendo en un momento dado su multiplicación. Cuando el conjunto de la descendencia es observable a simple vista por el enturbiamiento de la gota respectiva, el crecimiento ya no se detiene. En la mayoría de los casos, a los 3 ó 4 días, las gotitas cuyas esporas han germinado y producido células viables, presentan el referido enturbiamiento y dan cultivos utilizables.

#### D. *Curvas de fermentación:*

Los valores que han servido para la confección de los gráficos, han sido obtenidos midiendo la pérdida de peso diaria de matraces Erlenmeyer de 250 cc. con 200 cc. de mosto de malta, provistos de trampa para la retención del agua, y sembrados con un cultivo activo de la cepa a estudiar.

#### E. *Ilustraciones:*

Las fotomicrografías provienen de preparados efectuados sobre una superficie de agar común de caldo de carne en caja de Petri, coloreados con eritrosina según la fórmula de Winogradsky, citada por Fred y Waxman (1928).

### III. — INVESTIGACIONES EFECTUADAS

#### A. *Elección y esporulación de los cultivos:*

El material empleado consistió en cultivos de levaduras existentes en la Colección Microbiana de la Cátedra de Microbiología Agrícola de la Facultad.

Para las primeras prácticas de la micromanipulación fueron utilizadas algunas cepas que habían esporulado por envejecimiento en cultivos de agar de mosto de malta de algunos meses de edad. Simultáneamente fueron puestos en condiciones de esporular otros cultivos varios, elegi-

dos entre las especies de levaduras utilizadas en las industrias de fermentación.

Entre los procedimientos para obtener la esporulación, el de los bloques de yeso fué el que dió los mejores resultados, y aún cuando no esporularon todas las cepas que fueron someridas a este método, un buen porcentaje lo hizo, de modo que pudo comenzarse el trabajo con abundante material. Por consiguiente, no se creyo necesario recurrir en esta ocasión al método preconizado por Lindegren (1944), y que difiere fundamentalmente del que hemos adoptado, por la utilización de un medio especial de pre-esporulación en el que se siembran las levaduras antes de ser transferidas a los bloques de yeso.

#### B. *Obtención de los cultivos haploides:*

Las células de levaduras esporuladas fueron sometidas a una disección a objeto de proceder al aislamiento de las esporas, mediante procedimientos de micromanipulación. En la bibliografía no se han encontrado descriptas en detalle todas las operaciones efectuadas, de modo que en la ejecución del trabajo fué necesario ir resolviendo las dificultades que se presentaron en el transcurso del mismo. En esa forma, se consiguió desarrollar una técnica satisfactoria, mediante la cual se logró aislar diariamente un número de esporas superior a setenta, que Winge considera como buen promedio para personas prácticas.

Un total de 15 cepas fué sometido al procedimiento de disección aludido, lo cual permitió obtener 750 esporas en total. Las primeras 13 cepas de levaduras con que se trabajó se caracterizaron en conjunto porque sus esporas daban descendencia diploide, sea directamente al germinar, o bien luego de algunas generaciones de células haploides que terminaban por copular entre sí. Con dos de las cepas de este último tipo se procedió en ensayar la selección de los grupos haploides primitivos que aparecían en las gotas, de dos maneras: 1) estriando en cajas con agar de mosto de malta el material, tomado con un capilar, depositándolo en la superficie del medio y dispersando las células con la ayuda de una espátula corta, y 2) tomando con un capilar muy fino (micropipeta) los grupos haploides con ayuda del micromanipulador y cultivándolos en gotitas separadas. En el primer caso, las colonias que aparecieron fueron de células diploides exclusivamente, y en el segundo, la selección continuada de los grupos haploides impidió obtener grupos que se mantuvieran en tal estado porque todos los seleccionados no tardaron en diploidizarse por autocopulación.

La primera cepa de la que pudieron obtenerse cultivos haploides fué

la N° 208 de la Colección. Es ella una levadura de colonia rugosa, cuyas células son alargadas, permaneciendo unidas en grupos, según muestran las figuras Nos. 2 y 3. Esporula con facilidad en los bloques de yeso y menos rápidamente en lonjas de zanahoria. Es quizá, una de las razas de *Saccharomyces cerevisiae*.

Los primeros aislamientos de esporas de esta cepa fueron practicadas a partir de ascos obtenidos en zanahoria. La micromanipulación es algo dificultosa cuando se trabaja con células de este cultivo que han esporulado en dicho medio por cuanto las mismas permanecen unidas entre sí, y la separación de los ascos, cuando se hallan adheridos por sus dos extremos a otras células, no siempre es una operación que resulta factible, puesto que la ruptura de la unión trae como consecuencia generalmente el desgarramiento de la membrana de la célula esporulada antes de que pueda ser convenientemente alejada del grupo para no perder ninguna espora o confundir una de éstas con levaduras pequeñas o con brotes que se sueltan. Sin embargo, lograron ser aisladas unas 35 esporas en una primera etapa, y de ellas, germinaron 3, dos con descendencia diploide, que no pudo ser mantenida, y una con descendencia de células haploides de aspecto típicamente «toruloide».

De células de esta misma cepa esporuladas en yeso se realizó un segundo conjunto de 35 aislamientos, cuyos resultados fueron la obtención de una sola espora con descendencia, típicamente haploide, ilustrada en las figuras Nos. 7 y 8. Las células de la mencionada cepa 208, esporuladas en el yeso, no ofrecen unión tan tenaz entre sí como las esporuladas en zanahoria, y pueden ser separadas más fácilmente, sin peligro de ruptura. Además, fué mucho mayor el porcentaje de ascos, sobre todo de los de 4 esporas; pero la fertilidad no aumentó. El total de esporas fértiles para el conjunto de aislamientos practicados representó el 5,7 % en esta cepa.

La cepa con que se trabajó a continuación fué la que lleva el N° 206 de la misma colección. Presenta colonia lisa y células ovales, sueltas (Ver Figs. 4 y 5). Esporula con facilidad en los bloques de yeso y en los cultivos en agar de cierta edad. Se trata de *Saccharomyces cerevisiae*.

De un cultivo viejo en agar de mosto de malta en estría se obtuvo buena cantidad de células esporuladas, (aún cuando con un elevado porcentaje de ascos de 3 esporas), con las cuales se realizaron 35 aislamientos. La proporción de esporas germinadas fué de 57,1 %, vale decir 10 veces mayor que para la N° 208.

De las 35 esporas aisladas, 20 germinaron, y de ellas 7 fueron reconocidas como haploides y 13 como diploides. La mayoría de los diploides habían aparecido como tales desde la germinación de la espora respectiva.

Los cultivos haploides se comportaron como muy inestables, ya que de los 7 obtenidos sólo dos pudieron ser conservados en este estado. Uno de éstos sólo pudo ser mantenido por selección mediante pasaje por cajas, luego de haberlo utilizado en el primer ensayo de apareamiento intentado.

El aspecto de las colonias y células de uno de los haploides correspondientes a esta cepa está indicado en las figuras Nos. 8 y 9.

### C. *Oblención de los híbridos:*

Una vez obtenidos los cultivos haploides de las dos especies de levaduras citadas, se trató de aparearlos, reuniéndolos en un mismo tubo de medio líquido, de acuerdo con el método de Lindgren (1934, a).

#### 1. — ENSAYO PRELIMINAR

El primer par de haploides reunidos fué el constituido por los que hemos designado como 208-1 y 206-1. En el tubo de la mezcla fueron obtenidas células diploides a los dos días, que al ser sembradas en cajas daban colonias formadas por células diploides, mientras los dos tubos de control, en que se sembraron ambos progenitores separadamente, daban con el mismo tratamiento, colonias de células haploides.

El diploide obtenido en esta forma podía ser el resultado del apareamiento de las células haploides reunidas, o bien uno u otro, o ambos, de los haploides, diploidizados por copulación homotática, que manifestaban su inestabilidad en tal estado.

El haploide 208-1 fué probado repetidas veces en medios líquidos y en medios solidificables y nunca se lo encontró diploidizado parcial o totalmente; por otra parte, ese fenómeno hubiera podido ser descubierto inmediatamente por el aspecto inconfundible de las células diploides de esta cepa, a menos que hubiera resultado heterocigota para ese carácter.

No pudo afirmarse lo mismo para el comportamiento del haploide 206-1; sembrado nuevamente en superficie luego de su intervención en la experiencia, resultó una mezcla de colonias grandes y pequeñas, correspondientes a células haploides y diploides respectivamente. Se picaron las colonias del primer tipo, y hasta el presente, los cultivos que originaron se mantuvieron haploides, con lo cual la selección realizada en esa forma se manifestó eficaz. Pero la naturaleza del diploide obtenido en el tubo de la mezcla era desde entonces muy discutible, porque, aún con el resultado de los testigos, no podía afirmarse su condición de híbrido.

Además, el aspecto de las colonias del supuesto híbrido con respecto al tamaño para una misma edad, forma, borde, superficie, así como la forma de sus células, eran muy parecidas a los de los diploides homoci-

gotas de la cepa 206, que habían sido obtenidos en los cultivos de aislamientos monospóricos.

## 2. — PLAN DE APAREAMIENTOS

Luego de este primer ensayo, se estableció un plan de apareamientos en que intervinieron los 4 haploides, en todas las combinaciones posibles, en la forma que se indica en la planilla adjunta.

	Haploide 208-1	Haploide 208-2
Haploide 206-1	Híbrido N° 1 (repetición)	Híbrido N° 2
Haploide 206-2	Híbrido N° 3	Híbrido N° 4

Los resultados obtenidos fueron la obtención de cuatro híbridos, resultantes de las combinaciones entre los haploides apareados, descontando los dos apareamientos entre los haploides de una misma cepa, cuyos resultados fueron negativos.

A las 48 horas, se controlaron los resultados por medio de siembras efectuadas en cajas; esta vez, a fin de eliminar la posibilidad de que la diferencia de desarrollo pudiera ser atribuída al medio de cultivo, cada diploide supuesto híbrido fué sembrado conjuntamente con los haploides que le habían dado origen, dividiendo al efecto en tres partes la superficie de cada caja. El aspecto de una de esas cajas se ilustra en la figura N° 1.

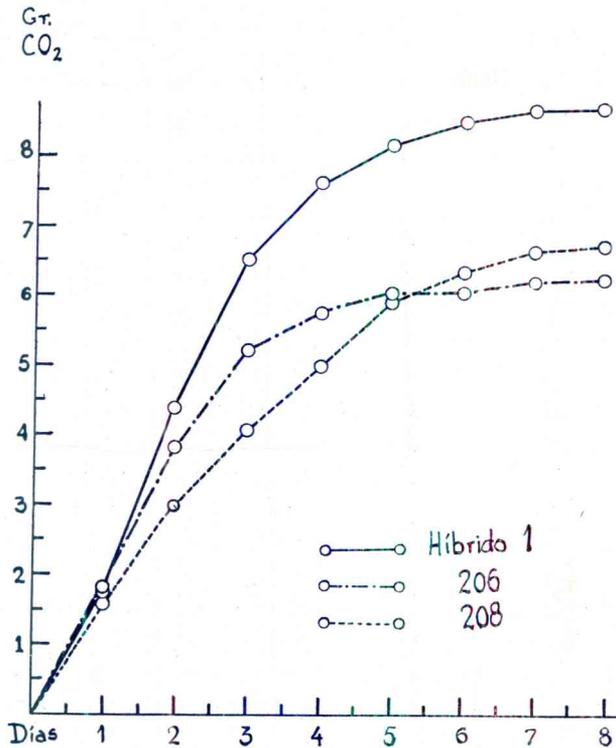
Las experiencias fueron repetidas de la manera siguiente: se volvió a reunir en un tubo de medio líquido cada par de haploides, pero esta vez, tomando, para la siembra, una parte de la colonia de cada haploide de las cajas. El material restante de cada colonia sirvió para la siembra de cada tubo testigo. Los resultados volvieron a repetirse, de modo que se tuvo la certidumbre de la obtención de híbridos verdaderos, que fueron identificados como tales en la forma que se verá a continuación.

### D. Reconocimiento y estudio de los híbridos:

#### 1. --- RECONOCIMIENTO DE LOS HÍBRIDOS OBTENIDOS:

La confirmación de la condición de híbridos para los diploides obtenidos en los tubos de las mezclas de haploides, según se acaba de relatar, hubo de ser realizada estudiando la segregación de las caracteres en la descendencia de cada supuesto híbrido. Para ello se los hizo esporular

por el método corriente. El híbrido que consignamos como N° 2 en el cuadro, lo hizo muy difícilmente, ya que hubo que esperar 14 días para obtener algunas células esporuladas. El diploide derivado del primer apareamiento (cuya repetición corresponde al N° 1), y el N° 3 dieron un número satisfactorio de ascos, mientras el N° 4 presentó el número más elevado de células esporuladas.



Curvas de fermentación del híbrido N° 1  
y de las cepas progenitoras

De cada uno de los cuatro híbridos obtenidos en esta segunda serie, fueron aisladas alrededor de 30 esporas, con excepción del primero, correspondiente al ensayo preliminar, del que, en total, se obtuvieron 72 esporas.

Como carácter de fácil reconocimiento para el estudio de la segregación, se tomó el de la superficie de las colonias. Con toda facilidad, ese sólo detalle permitió corroborar la opinión del carácter híbrido de todos los

diploides obtenidos. El aspecto de las colonias, correspondientes a cada tipo segregante de dos de los híbridos, puede verse en las ilustraciones Nos. 12, 14, 18 y 20, y el de las células, en las figuras Nos. 13, 15, 19 y 21. Por otra parte, aún cuando no ha sido registrado en forma gráfica, los cultivos en mosto de malta de los descendientes que habían de dar colonia rugosa, presentaban similitud con los cultivos, en el mismo medio, de los haploides provenientes de la cepa 208, vale decir, el desarrollo era grumoso y el líquido en general permanecía límpido; por el contrario, los que dieron colonia lisa presentaban un desarrollo en mosto en un todo semejante con los descendientes de la cepa 206, que forma un sedimento fino y enturbia el líquido fácilmente, aún con una leve agitación.

## 2. — ESTUDIO SOMERO DE LOS HÍBRIDOS OBTENIDOS:

En el estudio de los híbridos, sólo se han tomado en cuenta los caracteres más salientes de la morfología celular y de composición de las colonias, así como los relativos al poder de fermentación.

El híbrido obtenido en el ensayo preliminar resulta diferente del N° 1 correspondiente al plan de apareamiento en diversos aspectos, aún cuando este último representa la repetición de aquél. Las diferencias no sólo se manifiestan en lo relativo a la morfología celular, sino también en cuanto al poder de fermentación, que es mayor en el híbrido N° 1.

El *híbrido del ensayo preliminar* tiene células ovales a redoneadas, sueltas, de 4 a 6,5 micrones de largo por 3,5 a 6,0 micrones de ancho, mientras el *híbrido N° 1* posee células elíptico-ovales, sueltas, de 5,0 a 7,5 micrones de largo por 4,0 a 5,5 micrones de ancho, (ver Fig. 11).

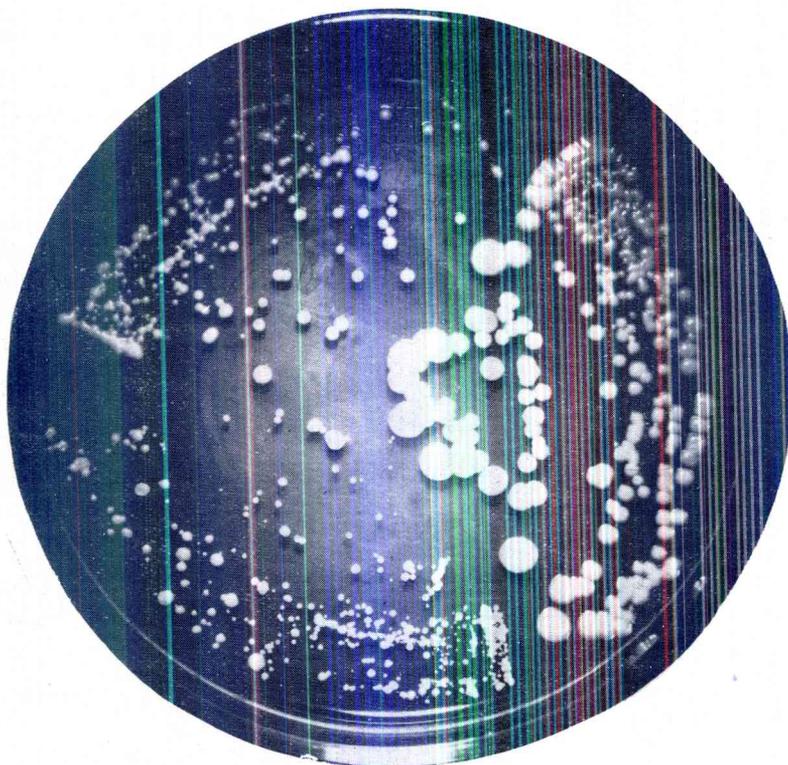
Los caracteres morfológicos de los tres híbridos restantes pueden ser resumidos como sigue:

*híbrido N° 2*: células elíptico-ovales, sueltas, de 0,4 a 7,5 micrones de longitud, por 3,5 a 5,5 micrones de ancho (Fig. 17).

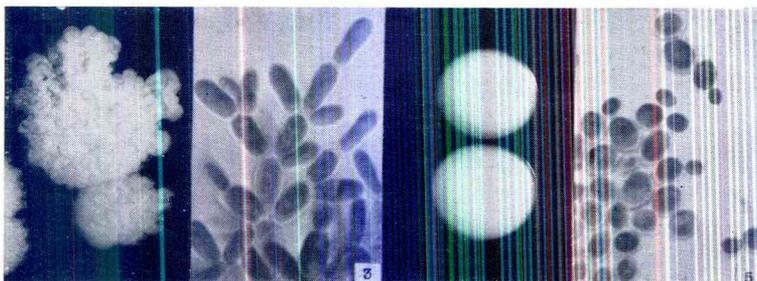
*híbrido N° 3*: células elíptico-ovales, la mayoría algo alargadas, sueltas, de 5,0 a 9,0 micrones de longitud por 3,5 a 6,0 micrones de ancho.

*híbrido N° 4*: células elíptico-ovales, sueltas, de 4,5 a 8,0 micrones de longitud, por 4,0 a 6,0 micrones de ancho.

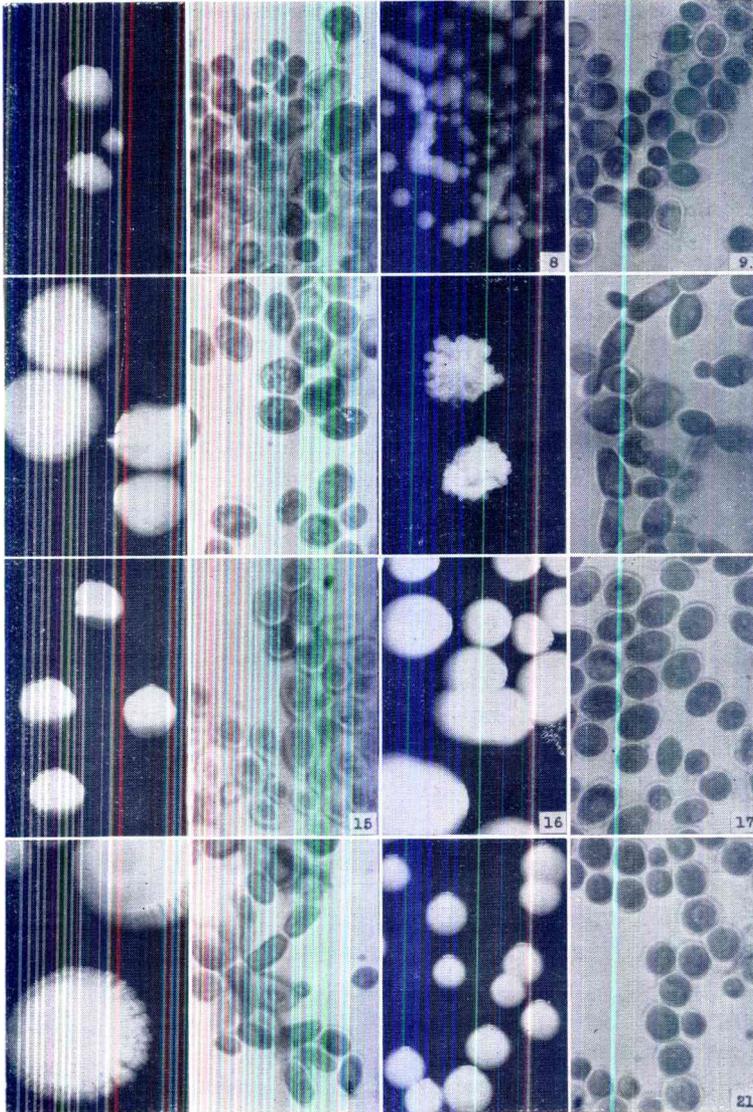
Los híbridos estudiados presentan colonias semajantes entre sí, y muy parecidas a las de la cepa progenitora N° 206, (Ver Figs. 10 y 16) cuyos caracteres de colonias resultan, por consiguiente, dominantes. Todos ellos ofrecen colonias redondas y convexas, con bordes lisos y superficie brillante. Las colonias de 1  $\frac{1}{2}$  a dos semanas de edad presentan prolongaciones periféricas, debidas a la filamentización de las células marginales.



1: Aspecto de una caja en la que se ha sembrado juntos dos haploides (sectores de colonias pequeñas) y el híbrido correspondiente (sector de colonias grandes).



2: Colonias de la cepa progenitora N° 208 (x 3); 3: Células de la cepa progenitora N° 208 (x 1000); 4: Colonias de la cepa progenitora N° 206 (x 3); 5: Células de la cepa progenitora N° 206 (x 1000).



6: Colonias del haploide 208-2 (x 3); 7: Células del haploide 208-2 (x 1000); 8: Colonias del haploide 206-1 (x 3); 9: Células del haploide 206-1 (x 1000); 10: Colonias del híbrido N° 1 (x 3); 11: Células del híbrido N° 1 (x 1000); 12: Colonias lisas de un segregante del híbrido N° 1 (x 3); 13: Células correspondientes a las colonias de fig. 13 (x 1000); 14: Colonias rugosas de un segregante del híbrido N° 1 (x 3); 15: Células correspondientes a las colonias de fig. 14; (x 1000); 16: Colonias del híbrido N° 2 (x 3); 17: Células del híbrido N° 2 (x 1000); 18: Colonias lisas de un segregante del híbrido N° 2 (x 3); 19: Células correspondientes a las colonias de fig. 18 (x 1000); 20: Colonias rugosas de un segregante del híbrido N° 2 (x 3); 21: Células correspondientes a las colonias de fig. 20 (x 1000).

Se ha estudiado, además, el comportamiento fermentativo de cada uno de los híbridos en el mosto de malta, comparándolos con sus progenitores diploides; el resultado ha sido registrado en gráficos, como el que va a continuación. Los híbridos superan a sus progenitores originales, aún cuando no con igual intensidad; los que manifiestan una mayor capacidad fermentativa son los números 1 y 4.

No puede afirmarse que domine, en relación a este carácter, uno de los progenitores sobre el otro, porque ambos presentan curvas bastantes semejantes, de modo tal que debe atribuirse en gran parte a la heterosis la mayor intensidad fermentativa que se observa para los híbridos estudiados.

Algunos otros datos que han surgido de la observación, permiten suponer que los casos descritos no son tan sencillos como lo parecen a simple vista, ya que existen distintas variantes de colonias rugosas y de colonias lisas, además del detalle interesante de la diferencia entre los dos híbridos que provienen del acoplamiento de los mismos haploides; pero el objetivo impuesto desde el principio al presente trabajo, que fué el de experimentar la metodología indispensable para la realización de las operaciones necesarias utilizables en un plan de mejoramiento de levaduras por hibridación, ha impedido, por ahora, ahondar en otros detalles interesantes que permitirían quizás abordar la interpretación genética del problema planteado.

#### IV. — CONCLUSIONES

1°. — En las experiencias efectuadas sobre cruzamientos, y mediante la utilización del instrumental que se menciona en el texto, ha sido posible llegar a superar el promedio de setenta esporas diarias, considerado como satisfactorio, que pueden ser aisladas por procedimientos de micromanipulación de células de levaduras.

2°. — Se ha observado que las células de los cultivos de levaduras estudiadas, provenientes de una espora, copulan generalmente entre sí, o nacen directamente en estado diploide, y sólo un número reducido de cepas ha dado células haploides que pueden ser mantenidas en ese estado, aunque no todos los haploides presentan igual estabilidad en las mismas condiciones de cultivo.

3°. — La utilización de los métodos ensayados y desarrollados en el trabajo ha permitido la obtención de cuatro híbridos de levaduras por acoplamiento de los cultivos haploides derivados de las esporas aisladas de los cultivos originales.

4°. — La intensidad de fermentación de los híbridos obtenidos en el

curso de las experiencias realizadas, se ha mostrado superior a la de los progenitores correspondientes; a este respecto, dos de los híbridos se han destacado netamente sobre los otros dos, dando curvas de valores manifiestamente más altos.

5°. — Las condiciones indispensables para obtener un resultado satisfactorio en las experiencias de hibridación de levaduras, se ha considerado que son: obtención de cultivos haploides a partir de las esporas aisladas; suficiente estabilidad de los haploides obtenidos; afinidad entre los haploides que se deben aparear y esporulación del híbrido cuya descendencia permita estudiar la segregación de los caracteres.

#### V. — RESUMEN

El trabajo consistió en la obtención de híbridos de levaduras mediante el apareamiento de cultivos haploides de estabilidad comprobada, derivados de las esporas aisladas por procedimientos de micromanipulación de cepas pertenecientes a la Colección Microbiana de la Cátedra de Microbiología Agrícola.

Los híbridos obtenidos fueron puestos a esporular y el estudio de los cultivos a que dieron origen las esporas separadas, permitió reconocer la legitimidad de aquéllos por la segregación de los caracteres correspondientes a los progenitores originales; en las fotos que acompañan al trabajo se ilustran algunos de los detalles de los resultados que se han obtenido en el curso de las investigaciones realizadas.

El instrumental que se ha utilizado para la disección de las células por procedimientos de micromanipulación, ha permitido aislar diariamente un número de esporas superior a setenta, que se considera como promedio bueno para personas prácticas. Además, la esporulación de las cepas se ha conseguido en forma satisfactoria en bloques de yeso acidificados con una solución de ácido acético y acetato de sodio a pH 4.

El poder fermentativo de los híbridos obtenidos es superior, en todos los casos, al de cada uno de los progenitores; dos de esos híbridos manifiestan una capacidad fermentativa muy superior a la de los otros dos.

#### S U M M A R Y

The work consisted in the obtention of yeast hybrids by means of mating haploid cultures of tested stability, derived from the isolated spores by procedures of micromanipulation of stocks belonging to the microbiological collection of the chair of Agricultural Microbiology of the Faculty.

The hybrids obtained were put to sporulate, and the study of the cul-

tivations originated by the separated spores, permitted to recognize their legitimacy through segregation of the characters corresponding to the original progenitors. In the photographs which accompany the present work, some details of the results obtained during the course of the investigations made, are illustrated.

The instrumental equipment used for the dissection of the cells by micromanipulation procedure, has permitted to isolate daily a number of spores, superior to seventy, which is considered good average for experienced persons. Moreover, the sporulation of the stocks has been obtained satisfactorily in plaster blocks acidified with a solution of acetic acid and acetate of sodium of pH 4.

The fermentative power of the hybrids obtained is, in all cases superior to that of each of the progenitors; two of these hybrids reveal a fermentative capacity very superior to that of the other two.

#### VI — BIBLIOGRAFIA

- ALMEIDA, F., e C. S. LACAZ. 1940. — *Nova tecnica para demonstração rapida dos ascosporos*, *Folia Clinica e Biologica*, Vol. XII, N° 4, S. Paulo.
- ENGEL. 1872. — *Les ferments alcooliques*. (Citada por HANSEN: *Ueber die Ascosporenbildung bei der Gattung Saccharomyces*, 1882, *Gesammelte theoretische Abhandlungen der Garungsorganismen*, pp. 125-168; resumido en *Comptes Rendus des trav. du Lab. Carlsberg*, II, 2: 13).
- FRED, E. B., and S. A. WAKSMAN. 1928. — *Laboratory manual of general microbiology*, First Edition, p. 49.
- K. KRUIS a J. SATAVA, 1918. — *O vyoži a klíčení spor jakoz i seksualite kvasinek*. V. Praze, 67 pp. y 24 láminas, (citado por Winge, 1935).
- LINDEGREN, C. C., and G. LINDEGREN. 1943, a. — *A new method of hybridizing yeasts*, *Proc. Natl. Acad. Sci., U. S.*, 29: 306-308.
- 1943, b. — *Selecting, inbreeding, recombining and hybridizing commercial yeasts*, *J. Bact.*, 46: 405-419.
- 1944. — *Sporulation in Saccharomyces cerevisiae*, *Botan. Gaz.*, 105: 304-316.
- SATAVA, J., 1918. — *O redukovaných formách kvasinek*. V. Praze, 48 pp. y 3 láminas, (citado por Winge, 1935).
- SATAVA, J. 1934. — *Les formes sexuelles et asexuelles des levures et leur pouvoir fermentatif*, *III° Congres international technique et chimique des industries agricoles*, 8 pp., París (citado por Winge, 1935); *Chem. Abstr.*, 29, 2296 (citado por Lindegren, 1943, b).
- SORIANO, S. 1935. — *Dispositivo sencillo para micromanipulaciones*, *Folia Biológica*, 46: 205-210.
- SORIANO, S. 1938. — *Estudio microbiológico del proceso de fermentación de la «chicha»*, *Rev. del Inst. Bacteriológico*, Vd. III, N° 3: 231-335.
- WINGE, O. 1935. — *On haplophase and diplophase in some saccharomycetes*, *C. Rend. des Trav. Lab. Carlsb., Sér. Physiologique*, 21: 77-112.

- WINGE, O, 1944. — *On segregation and mutation in yeasts*. C. Rend. des Trav. du Lab. Carlsb., Sér. Physiol., 24: 79-95.
- WINGE, O., and O. LAUSTSEN. 1937. — *On two types of spore germination, and on genetic segregations in Saccharomyces, demonstrated through single-spore cultures*, C. Rend. des Trav. du Lab. Carlsb., Sér. Physiol., 22: 99-116.
- 1939. a. — *Artificial species hybridization in yeast*, C. Rend. des Trav. du Lab. Carlsb., Sér. Physiol., 22: 235-344.
- 1939. b. — *On 14 new yeast types, produced by hybridization*, C. Rend. des Trav. du Lab. Carlsb., Sér. Physiol., 22: 337-352.

Desarrollo del tubo polínico en pistilos de manzanos, en flores autopolinizadas y en polinizaciones cruzadas recíprocas de las variedades Delicious y King David (\*)

POR EL ING. AGR. JORGE R. DÍAZ (\*\*)

INTRODUCCIÓN

La importancia económica que reviste la *incompatibilidad* en fruticultura, hizo que muchos investigadores le dedicaran su atención, y procuraran determinar si las variedades pertenecientes a las diferentes especies eran *autocompatibles*, es decir, si podían producir cosechas satisfactorias luego de fecundar sus flores con su propio polen, o en caso contrario, establecer con qué otras variedades deberían ser cruzadas, para obtener una producción de importancia comercial.

El método seguido hasta el presente para apreciar la mayor o menor *compatibilidad* de las variedades frutícolas, ha permitido señalar, efectivamente, cuáles de éstas deben consociarse, con el fin de obtener éxito en la fructificación; sin embargo, dicho método ha sido criticado con fundamento por varios autores.

El procedimiento aludido, consiste en castrar las flores de la variedad a polinizar, efectuar la polinización a mano depositando el polen sobre sus estigmas por medio de un pincel, y luego proteger las flores así polinizadas para evitar la visita de insectos, con bolsitas de papel que cubran una o varias de ellas, o bien con bolsas más grandes de género, que cubran ramas íntegras.

(\*) Presentado como Segundo Trabajo de Adscripción a la Cátedra, el 22 de diciembre de 1947; solicitada su publicación por la Comisión Examinadora compuesta por los profesores Ings. Agrs. Isaac P. Grünberg, Elvino Sartori y Roberto Rizzo Patrón.

(\*\*) Jefe Interino de Trabajos Prácticos en la Cátedra de Frutivicultura.

Suele evitarse a veces el empleo de estas bolsas o bolsitas, encerrando los árboles en verdaderas jaulas de alambre tejido, que cumplen la misma finalidad. El grado de compatibilidad que presentan las variedades ensayadas, se determina luego estableciendo la relación entre la cantidad de flores polinizadas, y el número de frutos que llegan a la madurez, o que subsisten en el árbol después de la «tercera caída» («June Drop»), o «caída de Diciembre», para el hemisferio Sur.

Los principales inconvenientes que entre otros le encuentra MAC DANIELS (1927) a este método, son su lentitud, y la introducción de muchas causas de errores experimentales, motivados principalmente por la castración de las flores y la colocación de las bolsitas. Por otra parte, considera que la relación entre la cantidad de frutos obtenidos y el número de flores polinizadas, no da absolutamente ninguna idea sobre la importancia comercial de la cosecha, y significa muy poco respecto a la compatibilidad entre variedades. Manifiesta que para lograr una apreciación más exacta sobre estos puntos, sería necesario conocer también, qué cantidad de ramitas fructíferas florecieron, y qué porcentaje de dichas ramitas llegaron a madurar su fruto.

Según HEILBORN (1938), la determinación del grado de compatibilidad entre variedades mediante la relación entre el número de flores polinizadas y la cantidad de frutos obtenidos, puede dar resultados más o menos exactos en *cerezos dulces*, porque esta especie presenta un límite bien marcado entre *esterilidad* y *fertilidad*, pero los resultados no son tan satisfactorios en *manzanos*, ya que su complicada estructura genética hace que la *auto* e *interfertilidad* se manifiesten en una completa gradación.

Por último ALMEIDA (1942), considera que el método clásico para determinar la compatibilidad, está sujeto a algunos errores motivados por causas diferentes, entre las cuales menciona las que siguen: 1º, sensibilidad del polen a las variaciones de humedad y temperatura; 2º, tendencia de algunas variedades a la partenocarpia estimulativa, y 3º, susceptibilidad de los frutos recién formados a los agentes meteorológicos y a las plagas. Considera difícil además, comparar el porcentaje de frutos producidos en diferentes años y por distintos árboles, pues la cantidad de flores que se transforman en frutos depende, entre otras cosas, del número de flores formadas en ese año y en ese árbol, del vigor de las plantas y de las ramas, y de la cantidad de frutos producidos el año anterior. Estima que el método es lento, que exige gran cantidad de trabajo, y que deben repetirse las observaciones en años sucesivos y en un número elevado de plantas, y aún así, los resultados no siempre son satisfactorios.

El mismo autor, en 1945 agrega, que siendo la capacidad de floración

una característica varietal, y existiendo variedades que florecen abundantemente y otras que lo hacen en menor escala, los porcentajes entre frutos obtenidos y flores polinizadas no tienen el mismo significado para unas que para otras.

Por los motivos expresados, desde hace tiempo se ha procurado encontrar un método, que con menos trabajo y más exactitud, pueda dar idea del mayor o menor grado de compatibilidad entre las gametas masculinas y femeninas de las diferentes variedades frutícolas.

Desde comienzos del siglo empezó a investigarse el comportamiento de los tubos polínicos en los casos de *autoincompatibilidad*. Luego estos estudios se hicieron extensivos a los casos de *incompatibilidad* entre variedades diferentes, y en 1938 y 1939, HEILBORN procura determinar la *auto* o *interincompatibilidad* en variedades de manzanos, mediante la observación del desarrollo y velocidad de penetración de los tubos polínicos en el interior de los pistilos.

Hasta el momento actual, si bien los resultados logrados en estas investigaciones han sido importantes, aún no se han resuelto todos los problemas relativos a la aplicación práctica del método, no obstante el carácter más bien categórico de las conclusiones a que arribó HEILBORN, como consecuencia de sus trabajos.

Este nuevo capítulo de la ciencia botánica y la técnica frutícola, presenta un amplio campo a la investigación, y un gran interés práctico, ya que a medida que se vayan conociendo mejor las modalidades del desarrollo de los tubos polínicos en los pistilos florales, y los factores que influyen para modificarlo, así como también las relaciones que existen entre dichas modalidades y los diferentes grados de compatibilidad entre las variedades, podrá llegar a establecerse si las variedades nuevas o no estudiadas suficientemente hasta el momento, son o no compatibles consigo mismas o con otras, y en caso afirmativo, en qué grado lo son, valiéndose para ello de un mínimo de material y un mínimo de tiempo.

Como se verá más adelante, varios investigadores procuran resolver las dificultades que presenta la aplicación práctica de este nuevo método.

El presente trabajo, ha tenido por objeto investigar la modalidad que presenta el desarrollo del tubo polínico en los estilos de las flores autopolinizadas de manzanos en dos variedades, Delicious y King David, cultivadas en la Colección Pomológica de la Facultad, y consideradas ambas como prácticamente *autoincompatibles*, o a lo sumo muy ligeramente *autocompatibles*; se ha procurado a la vez determinar también el comportamiento de los tubos polínicos en cruzamientos recíprocos de las mismas variedades, consideradas *compatibles* entre sí.

Para poder apreciar debidamente la importancia de esta clase de in-

investigaciones en el país, es necesario tener en cuenta que, como lo manifiesta ALMEIDA (1945), y ha sido corroborado en muchísimas oportunidades en la práctica, «... las relaciones de compatibilidad son eminentemente locales, y lo que es cierto en un país o en una región, puede dejar de serlo en otra».

#### REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Según EAST y PARK (1918), JOST en 1907 y CORRENS en 1912, observaron que en variedades autoestériles polinizadas con su propio polen, existía libre emisión de tubos polínicos, pero que éstos se desarrollaban con mucha lentitud en el interior del pistilo. En cambio, observaron que en las polinizaciones cruzadas, el desarrollo de los tubos era mucho más rápido. Como consecuencia de estos hechos, sacaron en conclusión que en el primer caso podrían actuar sustancias que inhibieran en cada planta el desarrollo de los tubos polínicos.

OSTERWALDER en 1910, citado por ALMEIDA (1945), manifestó que la improductividad de las variedades autoincompatibles, era motivada por la detención del desarrollo del tubo polínico antes de llegar al ovario, atribuyendo esta circunstancia a «la falta de capacidad fertilizante de estas variedades».

EAST y PARK (Op. Cit.), en sus investigaciones relativas a la autoesterilidad en especies de *Nicotiana*, observaron el desarrollo de los tubos polínicos a lo largo del pistilo, en autopolinizaciones y en cruzamientos compatibles e incompatibles; trazaron gráficos sobre el recorrido de los tubos en distintos casos, y establecieron que la diferencia entre ellos residía únicamente en la velocidad de penetración de los tubos polínicos a lo largo del estilo.

Según dichos autores, los resultados obtenidos indicarían que en un pistilo autopolinizado, los tubos polínicos no son inhibidos en su desarrollo por sustancias segregadas por él, sino más bien, que la diferencia que se observa en la velocidad de penetración con respecto a las polinizaciones cruzadas compatibles, se debería a que en estos casos, el pistilo segregaría sustancias que acelerarían la marcha de los tubos hacia el ovario.

EAST (1919), estableció que entre las autopolinizaciones y las polinizaciones cruzadas compatibles en especies de *Nicotiana*, no existía diferencia ni en el porcentaje de granos de polen germinados, ni en el tiempo necesario para su germinación, ni en la longitud de los tubos polínicos una vez producida ésta. Dicha diferencia estribaría únicamente en la velocidad de desarrollo de los tubos, constantemente acelerada a medida

que éstos se acercaban al ovario en los cruzamientos compatibles, y más reducida y uniforme cuando se trataba de autopolinizaciones.

Atribuyó las diferencias a una diastasa que facilitaría el desarrollo del tubo polínico, y que tendría su origen en el estilo, a raíz de un catalizador aportado por el mismo tubo.

BUCHHOLZ y BLAKESLEE (1927), observando el comportamiento de los tubos polínicos en especies de *Datura*, comprobaron la influencia de la temperatura sobre el desarrollo de los mismos, y establecieron que en los casos de incompatibilidad, la mayor parte de ellos se detenía cerca del estigma y presentaba sus extremidades abultadas, mientras que en polinizaciones compatibles, la mayor cantidad de dichas extremidades se encontraba en las vecindades del ovario.

En uno de los cruzamientos realizados, los autores pudieron observar también que la distribución de las extremidades de los tubos presentaba una curva bimodal, lo que interpretaron como un signo de la existencia de diferentes grados de afinidad entre el polen y el pistilo.

La detención de los tubos polínicos en los casos de incompatibilidad, es interpretada por CRANE (1927) como la consecuencia de una obstrucción mecánica, o de una incapacidad de los mismos para absorber sustancias alimenticias, debido a la presencia de una vaina de mucílago u otro compuesto similar, que rodearía sus extremidades abultadas.

La idea de la existencia de una relación entre la modalidad en el desarrollo de los tubos polínicos, y el grado de afinidad entre variedades, insinuada por los autores mencionados anteriormente, se afianza con AFIFY (1933), quién llegó a establecer que en las especies diploides, como cerezos, la incompatibilidad se manifiesta por la detención de todos los tubos polínicos a corta distancia del estigma, y la afinidad entre polen y pistilo en variedades compatibles, se traduce en la existencia de gran número de tubos polínicos que alcanzan el ovario y realizan la fecundación. En cambio, en especies poliploides como ciruelos y manzanos, el comportamiento de los tubos polínicos resultaría mucho más complejo; así, en un cruzamiento compatible en manzanos, encontró cuatro tipos distintos de granos de polen, que consideró como la expresión de otros tantos grados de afinidad: *a*) granos que no germinaron; *b*) granos que emitieron un tubo polínico corto, que detenía su desarrollo cerca del estigma, o presentaba su extremidad encorvada hacia él; *c*) granos cuyos tubos recorrieron alrededor de  $\frac{1}{3}$  de la longitud del estilo, y *d*) granos cuyos tubos llegaron al ovario.

Posteriormente, ASAMI y HAYAMI (1934) relacionaron el grado de afinidad entre polen y pistilo, con la velocidad de penetración de los tubos polínicos en el interior del estilo, y observaron que en cruzamientos in-

compatibles de perales japoneses, ésta era mucho menor que en los cruzamientos compatibles, y las extremidades de los tubos se presentaban abultadas con más frecuencia en el primer caso que en el segundo.

CUMMINGS, JENKINS y DUNNING (1936), estudiando la esterilidad en perales, expresan que durante las primeras 18 horas, las curvas de desarrollo de los tubos polínicos más avanzados en el interior de los estilos, son del tipo correspondiente a las reacciones autocatalíticas, registrándose una aceleración continua en su avance. En los pistilos autopolinizados, observaron un retardo marcado en el desarrollo de los tubos, alrededor de las 24 horas después de efectuada la polinización, y en cambio en los cruzamientos entre variedades compatibles, recién les fué posible observar dicho retardo cuando ya muchos tubos habían penetrado en el ovario, más o menos a las 48 horas de efectuada la polinización.

Los conocimientos adquiridos con respecto al desarrollo de los tubos polínicos en el interior del pistilo, indujeron a los investigadores a intentar su aplicación práctica, y tratar de establecer el grado de compatibilidad entre variedades, en base al comportamiento de los mismos. Es así que HEILBORN (1938) realizó el primer ensayo en este sentido, y en el año mencionado efectuó observaciones en flores autopolinizadas de variedades de manzanos diploides, llegando a la conclusión de que en base a las características de las curvas referentes a la penetración de los tubos extremos en relación con su velocidad, y a las modalidades que acusen los gráficos de distribución de las extremidades de la totalidad de los tubos polínicos a lo largo del estilo, puede determinarse el mayor o menor grado de autocompatibilidad de las variedades.

El mismo autor, publicó en 1939 experiencias similares relacionadas con el desarrollo de los tubos en cruzamientos intervarietales compatibles e incompatibles, estableciendo la curva correspondiente en ambos casos, y la distribución de los tubos polínicos a lo largo de los estilos. Observó que los tubos polínicos que penetraban rápidamente y presentaban un recorrido recto, producían poca callosa junto a sus extremidades, y éstas aparecían poco abultadas; en cambio los tubos que se detenían cerca del estigma, mostraban sus extremidades abultadas, y producían gran cantidad de callosa. Dedujo de esto que resultaría factible conocer con bastante certeza el grado de compatibilidad de las diferentes combinaciones de variedades, mediante el trazado de curvas referentes al desarrollo de los tubos polínicos extremos, y de gráficos de distribución de todos los tubos a lo largo del estilo, especialmente si se relacionaban estos resultados con la observación del aspecto que presentaban las extremidades de los tubos y la producción de callosa.

Posteriormente, RAPOPOULOS (1941) y LEWIS y MODLIBOWSKA (1942)

estudiaron el comportamiento de los tubos polínicos en el interior de pistilos de cerezos y perales respectivamente, y relacionaron las diferentes modalidades que observaron en su desarrollo, con distintos grados de compatibilidad entre las gametas masculinas y femeninas.

ALMEIDA (1942), describe un método para determinar la compatibilidad entre variedades, fundado sobre los principios establecidos por HEILBORN.

En 1945, realizó un prolijo estudio referente a las causas de improductividad en el almendro, y examinó todos los motivos que pueden hacer fracasar la fructificación, desde las anomalías florales hasta la incompatibilidad entre las gametas.

Partiendo de la suposición de que en los pistilos existieran sustancias de crecimiento que pudieran influir sobre el desarrollo de los tubos polínicos, procuró extraerlas de los ovarios de cuatro especies de *Antirrhinum*, y comprobó que el principio así obtenido, efectivamente ejercía una acción inhibitoria sobre su desarrollo.

Observó que en los casos en que los tubos polínicos detienen su marcha hacia el ovario a cierta altura del estilo presentan sus extremidades abultadas, pero no consideró esto un signo seguro de incompatibilidad como hasta entonces se interpretaba, sino que lo atribuyó a una falta de estímulo o a una acción inhibitoria ejercida por el pistilo sobre los tubos polínicos en vías de desarrollo, luego que uno de ellos había alcanzado el saco embrionario.

Desde el comienzo de sus estudios sobre el almendro en 1937-38, llegó a la conclusión, casi simultáneamente con HEILBORN, de que la velocidad de penetración de los tubos polínicos en los pistilos se encontraba relacionada directamente con la afinidad entre las variedades.

Determina en este trabajo el autor, el grado de compatibilidad entre diferentes variedades de almendros mediante el método corriente, y compara sus resultados con los del nuevo procedimiento, encontrando que ellos concuerdan bien.

El estudio de los factores que afectan al desarrollo del tubo polínico en el pistilo ha continuado, y en 1945, IRENA MODLIBOWSKA, realizando observaciones en manzanos y perales, estableció que las temperaturas elevadas acentúan las diferencias entre el polen compatible e incompatible, en cuanto a la velocidad de penetración de los tubos en los pistilos; determinó además, que en ambas especies existían tres tipos de tubos polínicos: a) *incompatibles*, que se detienen en el pistilo tanto más cerca del estigma cuanto más elevada es la temperatura; b) *semicompatibles*, que se desarrollan lentamente y llegan al ovario, pero raramente realizan la fecundación, y c) *compatibles*, que se desarrollan más rápidamente

que los anteriores y realizan la fecundación, siendo favorecidos por temperaturas algo elevadas.

Considera la autora que no es posible suministrar una interpretación genética del comportamiento de los tubos polínicos en manzanos y perales, a causa de que la gran complejidad y disparidad que ofrece el mismo, se debe a la alta poliploidía de estas especies.

Por la reseña que antecede, puede apreciarse el estado actual de los conocimientos y teorías relacionados con la penetración de los tubos polínicos en los pistilos, y los factores que sobre ellos actúan, así como su estrecha relación con el grado de compatibilidad entre las diferentes variedades. Puede juzgarse también el estado de las investigaciones tendientes a determinar esta mayor o menor afinidad entre variedades, en base a las modalidades que presenta el desarrollo de los tubos polínicos, cuyo conocimiento exacto sería de gran importancia práctica, al permitir el empleo de nuevos métodos, más simples y rápidos, destinados a efectuar dicha determinación. Y por fin, es posible comprobar las dificultades que se oponen por el momento, a aceptar como infalibles estos nuevos métodos, debido a la cantidad de factores que intervienen en sus resultados, entre los cuales quizás sea el más influyente la compleja poliploidía de las especies y variedades frutales, principalmente de las pertenecientes al género *Pyrus*.

### MÉTODO

En la experiencia, realizada durante la primavera del año 1946, se siguió el método siguiente:

En dos oportunidades, al principio y a mediados de su período de floración, se efectuaron autopolinizaciones y polinizaciones cruzadas recíprocas, en dos plantas de manzanos de las variedades Delicious y King David. A las 24, 48 y 72 horas después de efectuadas las polinizaciones, se eligieron y cortaron 10 flores correspondientes a cada uno de los períodos indicados, y a cada una de las combinaciones ensayadas, en la forma que a continuación se detalla:

		Principios de floración		Mediados de floración	
		24 hs.	10 flores	24 hs.	10 flores
Delicious	Autopolinizada	48	» 10 »	48	» 10 »
		72	» 10 »	72	» 10 »
		24	» 10 »	24	» 10 »
	Cruzada × K. David	48	» 10 »	48	» 10 »
		72	» 10 »	72	» 10 »
		24	» 10 »	24	» 10 »
King David	Autopolinizada	48	» 10 »	48	» 10 »
		72	» 10 »	72	» 10 »
		24	» 10 »	24	» 10 »
	Cruzada × Delicious	48	» 10 »	48	» 10 »
		72	» 10 »	72	» 10 »
		24	» 10 »	24	» 10 »

De las 10 flores cortadas en cada oportunidad para cada una de las combinaciones realizadas, se eligieron 2 al azar, y se efectuó su disección, cortando sus estilos en su base, justamente encima del ovario<sup>1</sup>. En caso de tropezar con algún inconveniente en la disección o en el manipuleo posterior de los estilos, se eligió una tercera o una cuarta flor, de manera de reunir en todas las oportunidades, entre 10 y 12 estilos para su observación al microscopio. Los estilos se fijaron en una mezcla de 6 % de formalina, y 94 % de alcohol de 50° (Buchholz, 1931), donde se dejaron por una hora.

Una vez fijados los estilos, se lavaron con agua y se dividieron longitudinalmente en dos con la ayuda de una aguja fina y un bisturí, trabajando bajo lupa. De cada estilo se utilizó sólo una de las mitades, que se coloreó de acuerdo al método de WATKIN (LEE, 1937), basado en el empleo de una solución al 0,08-0,1 % de azul de algodón en lactofenol (partes iguales de ácido láctico, fenol, glicerina y agua). Se probaron también los procedimientos de coloración indicados por BUCHHOLZ (1931), CHANDLER (1931) y NEBEL (1931), pero el que dió mejores resultados, permitiendo distinguir más fácilmente los tubos polínicos, fué el de WATKIN. El azul de metilo o azul de algodón, que constituye la base de este método, colorea con un tinte azul claro el tejido conductivo del estilo, y tiñe de un color azul oscuro a los tubos polínicos. Es un colorante que actúa sobre la callosa. Debe hacerse notar sin embargo, que en algunas oportunidades, la acción de este colorante presentó algunas anomalías,

<sup>1</sup> La palabra ovario, en este caso se refiere al conjunto formado por la unión del ovario y el receptáculo, o del ovario, receptáculo y cáliz, que en las pomáceas sirve de inserción a las restantes piezas florales.

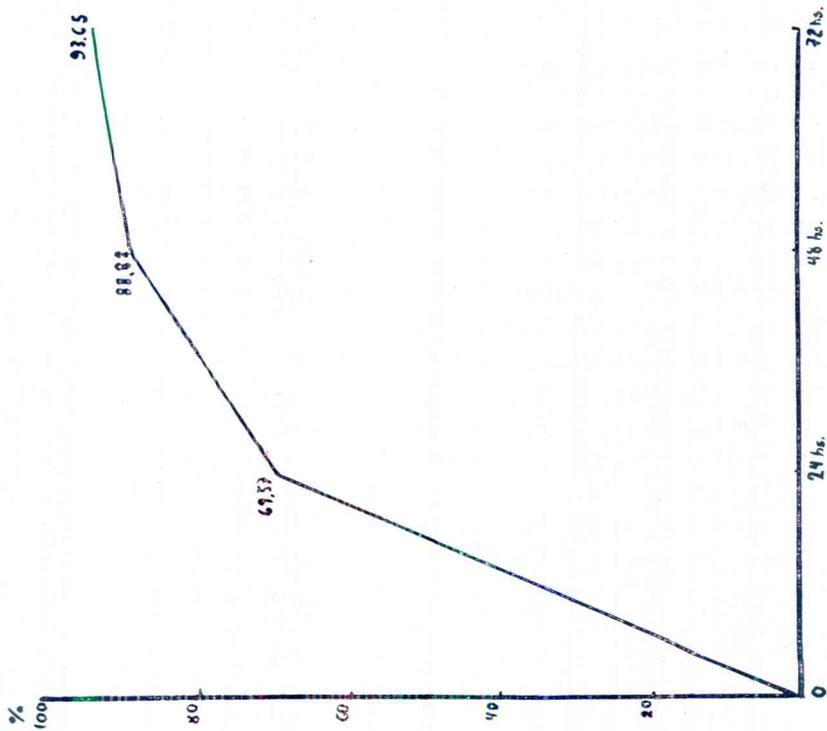


GRÁFICO N° 1. — Longitud de los tubos polínicos extremos, expresada en porcentajes del largo medio de los estilos, por períodos de 24 horas

Varietad King David x Delicieux ♂

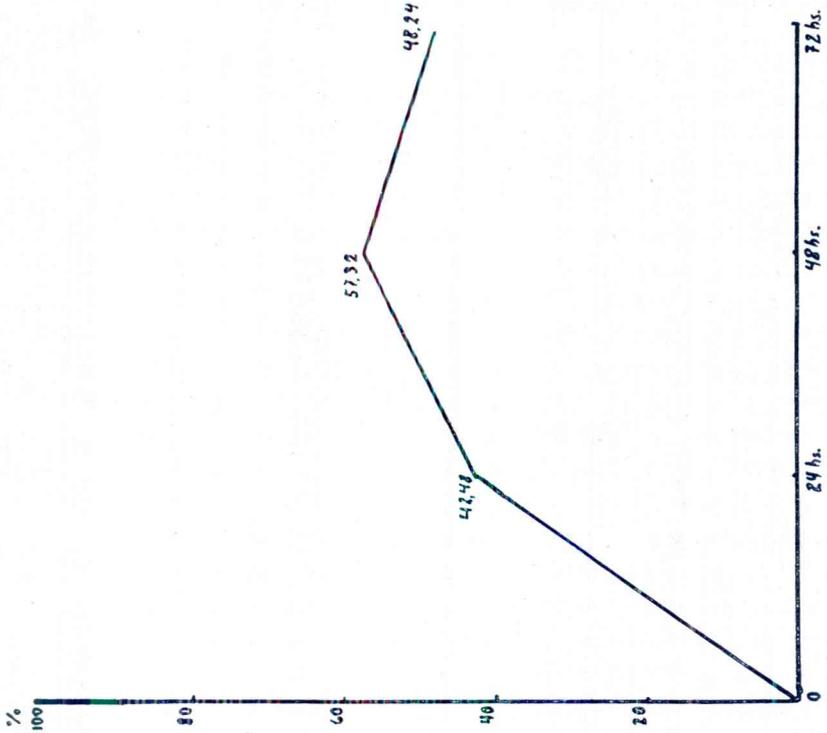


GRÁFICO N° 2. — Longitud de los tubos polínicos extremos, expresada en porcentajes del largo medio de los estilos, por períodos de 24 horas

Varietad King David x King David ♂

Escalas: Horizontal — 30 mm. = 24 horas,  
Vertical — 1 mm = 1 %

que el autor no sabe a qué atribuir. Efectivamente, en ciertos estilos el tejido conductivo y los tubos polínicos no tomaron una coloración azul, sino que se colorearon de verde, y en una o dos oportunidades, los estilos se colorearon de azul en parte de su longitud, y de verde en el resto. No obstante, en todos los casos fué relativamente fácil distinguir los tubos polínicos, pues se colorearon con mayor intensidad que el tejido conductivo, tanto en verde como en azul. Como explicación de esta anomalía, se pensó que la operación de seccionar longitudinalmente los estilos, en algunas ocasiones se hubiera realizado con más lentitud, por ser delicada y difícil de llevar a cabo sin dañar el material; por tal motivo, la mayor exposición de los tejidos al aire, habría provocado una oxidación, con ligero cambio de color de los mismos al amarillo o anaranjado claro; esta tonalidad, al combinarse luego con el azul del colorante, habría dado origen al verde.

Una vez realizada la coloración en 24 horas, los estilos se montaron en una gota del mismo colorante, y se observaron al microscopio. En cada uno de ellos se buscó el tubo polínico que hubiera alcanzado la máxima profundidad, y con un ocular micrométrico se midió la distancia desde el estigma hasta su extremidad. Se procuró también hallar el lugar del estilo donde se hubiera detenido la mayor cantidad de tubos polínicos, es decir, la zona que aproximadamente correspondiera a la moda de la distribución de las extremidades de los tubos, y se estableció su distancia al estigma. Independientemente, se determinó la longitud total de cada estilo más su estigma correspondiente, considerada desde la superficie de éste hasta la inserción del estilo en el ovario.

Las mediciones indicadas precedentemente, se realizaron entonces sobre tubos polínicos obligados a detenerse en su desarrollo a las 24, 48 y 72 horas después de haber realizado las polinizaciones, y para cada una de las cuatro combinaciones diferentes entre polen y pistilo, se hallaron los promedios correspondientes a la longitud de los pistilos, longitud de los tubos polínicos extremos, y longitud modal de penetración de los tubos polínicos para la totalidad de los pistilos observados, durante cada período de 24 horas, y por separado para las polinizaciones realizadas al principio y a mediados de la floración.

Los datos así obtenidos para las dos fechas en que se realiza cada polinización, se promediaron a su vez, y los resultados son los que se indican en los cuadros n<sup>os</sup>. 1 y 2 de la página anterior, como correspondientes a cada una de las cuatro combinaciones de variedades.

En el cuadro n<sup>o</sup> 1 se consigna la longitud alcanzada por los tubos polínicos extremos, expresada en micrones y en porcentajes de la longitud media de los estilos.

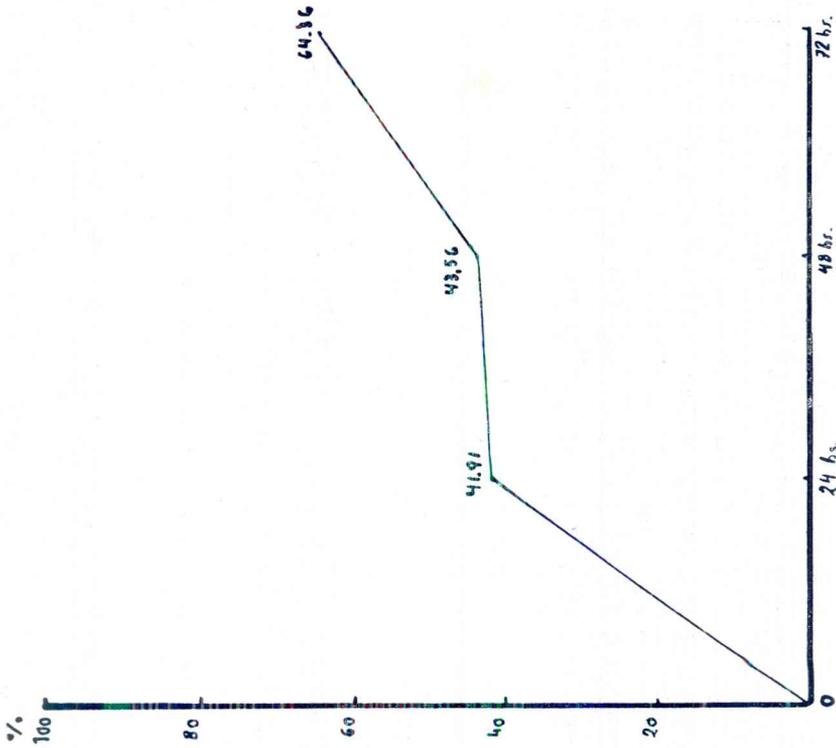


GRÁFICO N° 3. — Longitud modal aproximada, alcanzada por los tubos polínicos, expresada en porcentajes del largo medio de los estilos, por períodos de 24 horas

Variedad King David x Delicious ♂

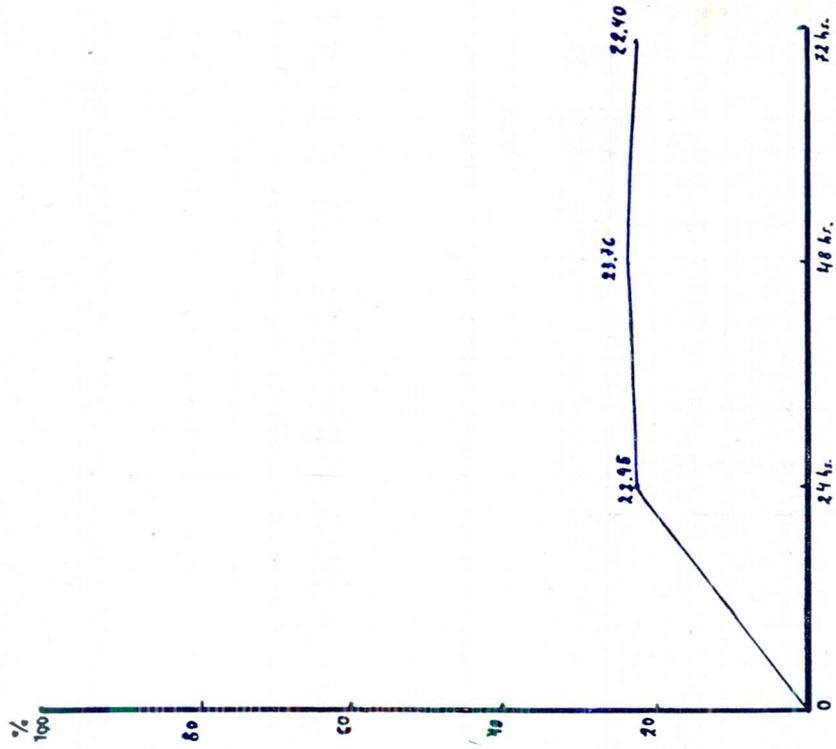


GRÁFICO N° 4. — Longitud modal aproximada, alcanzada por los tubos polínicos, expresada en porcentajes del largo medio de los estilos, por períodos de 24 horas

Variedad King David x King David ♂

Escalas: Horizontal — 30 mm = 24 horas.  
Vertical — 1 mm = 1 %

El cuadro n° 2 se refiere a la longitud modal alcanzada por los tubos polínicos, expresada también en micrones y en porcentajes de la longitud media de los estilos.

La longitud modal de penetración de los tubos polínicos se determinó

CUADRO N° 1

Longitud alcanzada por los tubos polínicos extremos en el interior de los estilos de manzanos, expresada en micrones y en porcentajes de la longitud de los estilos, por períodos de 24 horas.

Combinación de variedades	Longitud en micrones			Longitud en percent. del largo de estilo		
	24 hs.	48 hs.	72 hs.	24 hs.	48 hs.	72 hs.
King David × Delicious ♂	5.758,86	8.133,88	9.197,72	69,57	88,82	93,65
King David × King David ♂	3.451,71	4.880,48	5.874,94	42,48	57,32	48,24
Delicious × King David ♂	5.583,22	7.247,86	7.805,04	67,59	81,11	84,63
Delicious × Delicious ♂	4.876,97	6.164,75	6.517,76	54,63	73,97	74,30

CUADRO N° 2

Longitud modal aproximada, alcanzada por los tubos polínicos en el interior de los estilos de manzanos, expresada en micrones y en porcentajes de la longitud de los estilos, por períodos de 24 horas.

Combinación de variedades	Longitud en micrones			Longitud en percent. del largo de estilo		
	24 hs.	48 hs.	72 hs.	24 hs.	48 hs.	72 hs.
King David × Delicious ♂	3.464,58	4.009,44	6.297,03	41,91	43,56	64,36
King David × King David ♂	1.879,42	2.069,08	2.682,96	22,95	23,76	22,40
Delicious × King David ♂	3.544,64	4.637,53	4.617,22	43,10	52,31	49,94
Delicious × Delicious ♂	2.771,50	3.593,15	4.065,00	30,73	43,07	54,33

aproximadamente, estableciendo en cada pistilo como ya se manifestó, el lugar en que se encontró la mayor cantidad de extremidades de dichos tubos, y midiendo luego la distancia desde este punto al estigma; los resultados se promediaron luego en la forma indicada para la longitud de los tubos extremos, y son los que se consignan en el cuadro.

#### RESULTADOS Y CONSIDERACIONES

En base a las mediciones efectuadas en los tres períodos de 24 horas, se determinó luego la velocidad de penetración de los tubos polínicos durante cada período, tanto para los extremos, como para el conjunto

que constituía la moda de su distribución a lo largo del estilo, y esta velocidad se expresa a continuación en los cuadros n<sup>os</sup> 3 y 4, tanto en micrones por hora, como en porcentajes de la longitud media de los pistilos, durante cada período de 24 horas.

Para facilitar la interpretación de los resultados consignados en los cuadros n<sup>os</sup> 1 y 2, y mostrar las diferencias halladas entre las polinizaciones cruzadas compatibles y las autopolinizaciones, se han trazado los gráficos n<sup>os</sup> 1, 2, 3 y 4, en que se indica la penetración de los tubos polínicos extremos y de los tubos modales en estilos de King David polinizados por Delicious y en estilos de King David autopolinizados, expresada en porcentajes de la longitud media de los estilos.

CUADRO N<sup>o</sup> 3

Velocidad de penetración de los tubos polínicos extremos en el interior de los estilos de manzanos, expresada en micrones por hora y en porcentajes de la longitud de los estilos para cada período de 24 horas.

Combinación de variedades	Velocidad en micrones/hora			Velocidad en porcent. de la longitud de los estilos/24 hs.		
	24 hs.	48 hs.	72 hs.	24 hs.	48 hs.	72 hs.
King David × Delicious ♂	239,95	101,03	42,23	69,57	19,25	4,83
King David × King David ♂	143,82	59,33	41,43	42,48	14,84	9,08
Delicious × King David ♂	232,63	83,10	23,21	67,59	13,52	3,52
Delicious × Delicious ♂	203,20	53,65	14,71	54,63	19,34	0,33

CUADRO N<sup>o</sup> 4

Velocidad de penetración de los tubos polínicos modales en el interior de los estilos de manzanos, expresada en micrones por hora, y en porcentajes de la longitud de los estilos para cada período de 24 horas.

Combinación de variedades	Velocidad en micrones/hora			Velocidad en porcent. de la longitud de los estilos/24 hs.		
	24 hs.	48 hs.	72 hs.	24 hs.	48 hs.	72 hs.
King David × Delicious ♂	144,35	22,70	95,31	41,91	1,65	20,80
King David × King David ♂	78,30	7,90	26,50	22,95	0,81	1,36
Delicious × King David ♂	147,69	44,49	0,84	43,10	9,21	2,37
Delicious × Delicious ♂	115,47	34,23	19,66	30,73	12,34	2,25

Debe hacerse presente que se han elegido dichas combinaciones para el trazado de los gráficos, por presentar diferencias bastante notables en un caso y en otro, si bien en el conjunto de las polinizaciones efectuadas, estas diferencias no siempre resultaron tan marcadas.

El examen de los cuadros y los gráficos demuestra en general, tanto

para polinizaciones cruzadas como para autopolinizaciones, e igualmente al considerar los tubos extremos y los modales, que la penetración es comparativamente mucho mayor durante las primeras 24 horas que en los períodos subsiguientes, pues si bien aquella continúa durante el segundo y tercer período, lo hace a velocidad pregresivamente decreciente. No obstante, en algunas oportunidades se observó que la velocidad durante el tercer período de 24 horas fué mayor que en el segundo, aunque también en este caso, siempre menor que en el primero.

La principal diferencia hallada entre las autopolinizaciones y las polinizaciones cruzadas compatibles, reside en la velocidad de penetración de los tubos, principalmente durante las primeras 24 horas, siendo en los cruzamientos algo mayor que en las autopolinizaciones.

Concuerdan bastante los resultados expresados en micrones, con los expresados en porcentajes de la longitud media de los estilos. Asimismo, existe también una cierta concordancia entre los resultados de las mediciones de los tubos polínicos extremos, y los correspondientes a los tubos modales.

Si se considera, con la mayoría de los autores, que la velocidad de penetración de los tubos polínicos es un indicio de la compatibilidad entre las gametas de ambos sexos, los resultados obtenidos indicarían que *la variedad King David es más autoincompatible que Delicious*, lo que estaría de acuerdo con lo hallado mediante los métodos clásicos por HOWLETT, y por OVERHOLSER y OVERLEY para Delicious, en comparación con los resultados obtenidos por MURNEEK para King David, resumidos por JUNGERIUS (1934).

La mayor proporción de los tubos polínicos, es decir, los denominados tubos modales en el presente trabajo, parecen detenerse alrededor de las 72 horas de la polinización, luego de haber recorrido aproximadamente el 50 % de la longitud media de los estilos, debiéndose atribuir esto, en caso de aceptar la hipótesis de ALMEIDA (1945), a una anulación de la influencia ejercida por el pistilo sobre todos los tubos polínicos, en cuanto uno de ellos ha llegado al saco embrionario.

En algunas pocas oportunidades, se encontró que la penetración de los tubos, tanto extremos como modales, fué menor a las 72 horas de haber efectuado la polinización, que 24 horas antes, es decir a las 48 horas. Esta anomalía podría tener tres explicaciones. Una de ellas sería que los tubos polínicos, en determinadas oportunidades, se detendrían en su desarrollo poco después de las 24 horas, si bien en algunos estilos podrían existir tubos que hubieran desarrollado más velocidad que otros; tanto las observaciones efectuadas a las 48 como a las 72 horas, registrarían la posición alcanzada por los tubos hasta el momento de

su detención, es decir durante el segundo período de 24 horas; podría coincidir que en algunas oportunidades, la observación efectuada a las 48 horas registrara la distancia alcanzada por estos tubos más veloces, dando ello origen a los resultados encontrados.

Otra explicación, para el caso de los tubos extremos, sería el haber considerado como tales, en la observación realizada a las 72 horas, a tubos que en realidad no lo eran, por la circunstancia de haber penetrado ya en la cavidad del ovario, uno o varios tubos más avanzados, y que por tal motivo resultarían invisibles al no colorearse la porción remanente de cada uno de ellos en el estilo.

Por fin una tercera explicación, derivada de la aludida hipótesis de ALMEIDA, y aplicable especialmente al comportamiento de los tubos modales, consideraría que la menor distancia alcanzada por estos a las 72 horas que a las 48, se debería a la circunstancia de haber llegado ya al saco embrionario alguno de los tubos extremos, y haber originado la anulación de la influencia que ejercía el pistilo sobre los tubos polínicos, motivando así la detención de su desarrollo.

En el presente trabajo no fué determinada la influencia que pudieran haber ejercido las variaciones de temperatura sobre la velocidad de penetración de los tubos polínicos, pero sin embargo, con la finalidad de facilitar la comparación de los resultados, se procuró realizar el mismo día, tanto las autopolinizaciones como las polinizaciones cruzadas, siempre que ello resultó factible.

En general concuerda bastante el comportamiento de los tubos extremos y el de los tubos modales, en las dos épocas en que se efectuaron polinizaciones.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo, indican que en las polinizaciones cruzadas entre variedades compatibles de manzanos, el desarrollo del tubo polínico presenta una curva que no muestra incremento de velocidad a medida que éste se acerca al ovario, como encontró EAST (1919), en cruzamientos compatibles de especies de *Nicotiana*.

La característica indicada, se observó tanto en las autopolinizaciones prácticamente incompatibles, como en las polinizaciones cruzadas compatibles, y no se encuentra totalmente de acuerdo con lo manifestado por HEILBORN (1939), acerca de las diferencias en la velocidad de penetración de los tubos polínicos en autopolinizaciones, y en las polinizaciones cruzadas de variedades compatibles. Según este autor, en las polinizaciones de este tipo, los tubos extremos no se verían retardados en su desarrollo en la parte profunda de los estilos, como ocurre en las autopolinizaciones, sino que su velocidad sería prácticamente constante.

La falta de una diferencia neta en lo que respecta a la velocidad

de penetración de los tubos polínicos, entre las autopolinizaciones y las polinizaciones cruzadas de variedades compatibles en manzanos, es atribuible a la compleja poliploidía de la especie, que hace que por una parte, las manifestaciones de la incompatibilidad no se presenten en forma marcada, y por la otra, que en el conjunto de los granos de polen provenientes del individuo polinizador, existan algunos que son *compatibles*, otros que son *semicompatibles*, y por fin un tercer grupo constituido por granos *incompatibles*, como lo estableció MODLIBOWSKA en 1945.

En general se encontraron extremidades de tubos polínicos abultadas en casi todos los estilos observados; sin embargo, en algunas polinizaciones cruzadas estos abultamientos resultaron muy moderados, especialmente en los pistilos de la variedad King David, en la cual en muchas oportunidades resultó difícil establecer si tales abultamientos existían, o eran solamente el resultado de un ligero aumento de volumen, motivado por la acumulación normal del contenido de los tubos polínicos en su extremidad.

Las extremidades abultadas se presentaron con mayor frecuencia y de manera más notable en los pistilos de Delicious, y aparecieron preferentemente en los tubos que se encontraban a mayor profundidad.

#### CONCLUSIONES

De la observación del desarrollo de los tubos polínicos en los estilos de manzanos, como consecuencia de autopolinizaciones de las variedades Delicious y King David, y de polinizaciones cruzadas recíprocas realizadas entre las mismas, pueden extraerse las siguientes conclusiones:

1°. — La velocidad de penetración de los tubos polínicos resultó siempre mayor durante el primer período de 24 horas a contar de la polinización, y fué disminuyendo progresivamente durante el segundo y el tercer período.

2°. — La única diferencia notable encontrada en el comportamiento de los tubos polínicos entre las autopolinizaciones y las polinizaciones cruzadas compatibles, fué su velocidad de penetración, bastante mayor en las segundas que en las primeras, tanto en los tubos más avanzados como en los tubos modales, lo que dió por resultado que cumplidas las 72 horas desde el momento de la polinización, ambos grupos de tubos alcanzaron mayores profundidades en los pistilos tratados con polen de otra variedad compatible, que en los pistilos autopolinizados.

3°. — La diferencia en la velocidad alcanzada por los tubos po-

lúnicos en ambos casos, es especialmente marcada durante las primeras 24 horas a contar de la polinización.

4°. — El comportamiento de los tubos extremos concordó bastante bien con el de los tubos modales, en las dos épocas en que se realizó la experiencia.

5°. — En las polinizaciones cruzadas compatibles, no se encontró aumento en la velocidad de penetración de los tubos polínicos a medida que éstos se acercaban al ovario, como lo pudieron observar EAST y PARK (1918), en cruzamientos compatibles de especies de *Nicotiana*, y HEILBORN en algunas polinizaciones compatibles de manzanos. Por el contrario, la velocidad de penetración apareció progresivamente retardada, como se manifestó precedentemente.

6°. — Las observaciones realizadas no permiten establecer una diferencia neta en cuanto a la apariencia de las extremidades de los tubos polínicos, entre las autopolinizaciones y las polinizaciones cruzadas compatibles.

7°. — Por el momento, en base a los resultados obtenidos en la experiencia, y al estado actual de los conocimientos referentes al comportamiento de los tubos polínicos en autopolinizaciones y en polinizaciones cruzadas de variedades compatibles, no se considera posible determinar con exactitud el grado de compatibilidad entre las diferentes combinaciones de variedades de esta especie, mediante la observación del desarrollo de los tubos polínicos en el interior de los pistilos.

## RESUMEN

El presente trabajo tuvo por objeto determinar las modalidades que pudiera presentar el desarrollo de los tubos polínicos en el interior de pistilos de flores de manzanos, correspondientes a las variedades King David y Delicious, autopolinizadas y cruzadas entre sí recíprocamente.

Las polinizaciones se efectuaron en dos épocas: al principio, y a mediados del período de floración de las variedades.

Al término de 24, 48 y 72 horas después de efectuada cada polinización, se midió la penetración de los tubos extremos y modales, indicando la distancia a que se encontraban sus extremidades desde el estigma, expresándola en micrones y en porcentajes de la longitud media de los estilos.

En base a los datos así obtenidos, se calculó la velocidad de penetración de los tubos, tanto extremos como modales, para cada período de

24 horas, expresándola en micrones por hora, y en porcentajes de la longitud media de los estilos cada 24 horas.

La preparación de los pistilos para ser observados, se efectuó de acuerdo al procedimiento de fijación indicado por BUCHHOLZ (1931), seguido por la división longitudinal de los pistilos, y su posterior coloración de acuerdo al método de WATKIN (LEE 1937), basado en el empleo del azul de metilo en lactofenol.

Pudo establecerse que la velocidad de penetración de los tubos polínicos alcanzó su grado máximo en todos los casos, durante el primer período de 24 horas a contar de la polinización, y disminuyó progresivamente en los períodos subsiguientes. Por otra parte, la única diferencia de importancia observada en el comportamiento de los tubos entre las autopolinizaciones y las polinizaciones cruzadas, fué su mayor velocidad de penetración en éstas que en las primeras, diferencia que resultó particularmente acentuada durante el primer período de 24 horas con respecto a los subsiguientes.

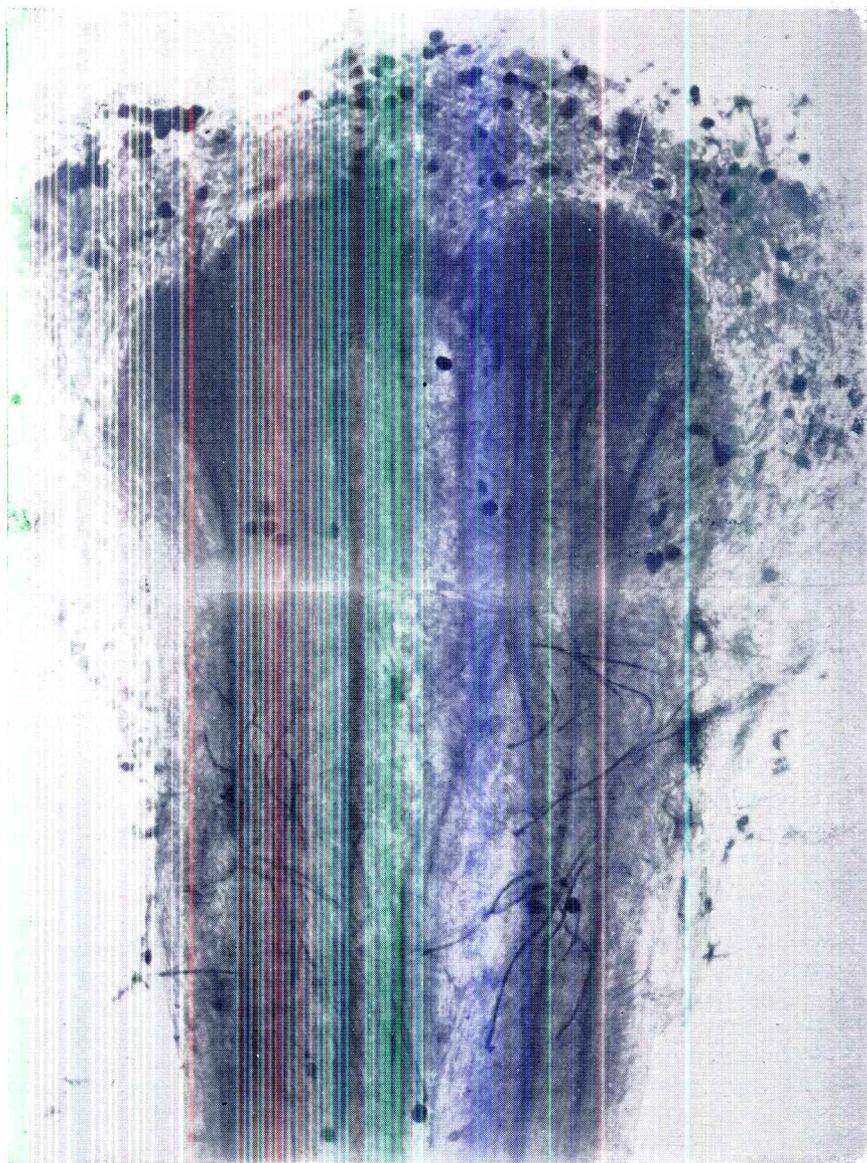
El aspecto de las extremidades de los tubos polínicos, no ofreció en cambio diferencias netas que permitieran caracterizar un caso u otro, y no se considera factible por el momento, en base a los resultados de la experiencia y al estado actual de los conocimientos relacionados con el comportamiento de los tubos polínicos en los pistilos, poder determinar con certeza el grado de compatibilidad entre variedades de esta especie, mediante la sola observación de dicho comportamiento.

#### BIBLIOGRAFIA

- AFIFY, A. 1933. *Pollen tube growth in diploid and polyploid fruits*. J. Pomol. and Hort. Sci. 11: 113-19 (Resumen en Hort. Absts. 3: 112-13. 1933).
- ALMEIDA, C. R. MARQUES DE. 1942. *Um novo metodo para o estudo da produtividade das fruteiras*. Anais do Inst. Sup. de Agr. 13: 99-103. Lisboa.
- 1945. *Acerca da improdutividade na Amendoeira*. Sep. dos Anais do Inst. Sup. de Agr. 15: 184 pp. Lisboa.
- ASAMI, Y. and HAYAMI, F. 1934. *The growth of pollen tubes in incompatible pollinations of Japanese pears*. J. Hort. Ass. Jap. 5: 222-32. (Resumen n° 16 en Hort. Absts. 5: 8. 1935).
- BEATTY, A. V. 1937. *A method for growing and for making permanent slides of pollen tubes*. Stain Technology 12 (1): 13-14.
- BEAUMONT, J. H. 1927. *The course of pollen tube growth in the apple*. Minnesota Stud. Plant. Sci. Stud. Biol. Sci. 6: 373-99. (Resumen n° 13.330 en Biol. Absts. 2: 1.243 1928).
- BECK, W. A. and RUSSELL, A. JOLY. 1941. *Some growth phenomena in cultured pollen tubes*. Trans. Amer. Microsc. Soc. 60 (2): 149-62. (Resumen n° 5.457 en Biol. Absts. 16: 492. 1942).

- BOIS, D. 1927. *Concerning the sterility of phanerogamic plants*. (French studies). Mem. of the Hort. Soc. of New York. 3: 377-97.
- BUCHHOLZ, J. T. and BLAKESLEE, A. F. 1927. *Pollen-tube behaviour with reference to sterility in Datura*. Mem. of the Hort. Soc. of New York. 3: 245-60.
- BUCHHOLZ, J. T. 1931. *The dissection, staining and mounting of styles in the study of pollen-tube distribution*. Stain Tech. 6: 13-24.
- COOPER, J. R. 1937. *Factors influencing fertilization of apple blossoms and setting of fruit*. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 35: 27-35.
- CRANE, M. B. 1927. *Studies in relation to sterility in plums, cherries, apples and raspberries*. Mem. of the Hort. Soc. of New York. 3: 119-134.
- and LAWRENCE, W. J. C. 1930. *Fertility and vigour of apples in relation to chromosome number*. Journal of Genetics. 22: 153-63.
- 1938. *The Genetics of Garden Plants*. 236 pp. Mac Millan and Co., Limited. London.
- and LEWIS, D. 1942. *Genetical studies in pears*. Journal of Genetics 43: 31-43.
- CUMMINGS, M. B.; JENKINS, E. W. and DUNNING, R. G. 1936. *Sterility in Pears*. Vermont Agr. Exp. Sta. Bul. 408. 84 pp.
- CHITTENDEN, FRED, J. 1927. *Sterility in fruits: A summary of twenty years of study at The Royal Horticultural Society's Gardens*. Mem. of the Hort. Soc. of New York. 3: 79-85.
- DARLINGTON, C. D. and MOFFETT, A. A. 1930. *Primary and secondary chromosome balance in Pyrus*. Journal of Genetics. 22: 129-151.
- DÍAZ, J. R. 1946. *Ensayos sobre germinación del polen de manzanos en un medio artificial*. Fac. Agr. y Vet. Inst. de Frutivicultura y Silvicultura 1 (5). 103 pp. Buenos Aires.
- EAST, E. M. 1919. *Studies en self-sterility. IV. Selective fertilization*. Genetics 4: 346-355.
- 1934. *Norms of pollen-tube growth in incompatible matings of self-sterile plants*. Proc. Nation. Acad. Sci. U. S. A. 20 (4): 225-30. (Resumen n° 2.612 en Biol. Absts. 10: 277. 1936).
- and MANGELSDORF, A. J. 1927. *The genetics and physiology of self-sterility in Nicotiana*. Mem. of the Hort. Soc. of New York 3: 321-23.
- and PARK, J. B. 1917. *Studies en self-sterility. I. The behaviour of self-sterile plants*. Genetics 2: 505-609.
- 1918. *Studies on self-sterility. II. Pollen tube growth*. Genetics 3: 353-66.
- EIGSTI, O. J. 1937. *Permanent pollen tube and slides with the vapor method of changing reagents and dehydration*. Stain Technology 12: 53-54.
- EINSET, O. 1930. *Cross-unfruitfulness in the apple*. N. Y. St. Agr. Exp. Sta. Tech. Bull. 159.
- FLORIN, RUDOLF. 1927. *Pollen production and incompatibilities in apples and pears*. Mem. of the Hort. Soc. of New York 3: 87-118.
- FLORY, JR., W. S. and TOMES, M. L. 1943. *Studies of plum pollen, its appearance and germination*. Jour. of Agr. Res. 67 (9): 337-58. (Resumen en Proc. of the Amer. Soc. Hort. Sci. 43: 42. 1943).
- GARDNER, V. R.; BRADFORD, F. C. and HOOKER, JR. H. D. 1939. *The Fundamentals of Fruit Production*. XVI, 788 pp. McGraw-Hill Book Company, Inc. New York and London.
- GRIGGS, W. H. and LEE SCHRADER, A. 1942. *Comparison of certain varieties as pollenizers for the Delicious apples*. Proc. of the Amer. Soc. for Hort. Sci. 40: 87-90.

- HEILBORN, OTTO. 1938. *Pollen tube growth in self-pollinated flowers of diploid apple varieties*. Annals of the Agricultural College of Sweden 5: 165-77.
- 1939. *Pollen tube growth in apple styles after inter-varietal crosspollination*. Annals of the Agricultural College of Sweden 7: 171-83.
- HEINICKE, A. J. 1927. *Some factors to be considered in the practical application of sterility studies of fruits*. Mem. of the Hort. Soc. of New York 3: 135-38.
- JOHANSEN, D. A. 1940. *Plant Microtechnique*. XI. 523 pp. McGraw-Hill Book Company, Inc. New York and London.
- JUNGERIUS, N., L. I. 1934. *Samenvattend overzicht van de bestaande opattingen omtrent de corzaken van onvoldoende vruchtzetting bij vruchtbomen. met tabellen van kiemperecentages van stuifmeel; resultaten van zelfbestuiving en van kruisbestuiving bij appels, peren, kersen en pruimen*. Landbouwhogeschool te Wageningen (Nederland). Laboratorium voor Tuinbouwplantenteelt 22: 1-236.
- KVAALE, ERLING. 1927. *Abortive and sterile apple pollen*. Mem. of the Hort. Soc. of New York 3: 399-408.
- LEWIS, D. and MODLIBOWSKA, I. 1942. *Genetical studies in pears. IV. Pollen tube growth and incompatibility*. Journal of Genetics 43: 211-22.
- MAC DANIELS, L. H. 1927. *An evaluation of certain methods used in the study of the pollination requirements of Orchard Fruits*. Mem. of the Hort. Soc. of New York 3: 139-50.
- MAGNESS, J. R. 1937. *Progress in apple improvement*. Yearbook of Agriculture.: 575-614.
- MODLIBOWSKA, IRENA. 1945. *Pollen tube growth and embryo-sac development in apples and pears*. J. Pomol. and Hort. Sci. 21 (1-4): 57-89.
- MURNEEK, A. E. 1937. *Pollination and fruit setting*. Missouri Agr. Exp. Sta. Bull. 379. 28 pp.
- OVERHOLSER, E. L. 1927. *Apple pollination studies in California*. Mem. of the Hort. Soc. of New York 3: 151-64.
- RAPTOPOULOS, T. 1941. *Pollen tube growth studies in cherries*. Journal of Genetics 42: 73-89.
- ROY, BASUDEV. 1939. *Studies on pollen tube growth in Prunus*. J. Pomol. and Hort. Sci. 16: 320-28. (Resumen n° 56 en Hort. Absts. 9: 19. 1939).
- SAVELLI, R. et CARUSO, C. 1940. *Stimulation mutuelle dans la germination des grains de pollen de Nicotiana*. Comptes Rendues des Séances de L'Academie de Sciences 210: 184-86.
- SCHROEDER, C. A. 1942. *Pollen germination in the avocado*. Proc. of the Amer. Soc. Hort. Sci. 41: 181.
- SMITH, P. F. 1942. *Studies of the growth of pollen with respect to temperature, auxins, colchicine and vitamin B1*. Amer. Jour. of Botany 29: 56-66.
- TAVERNIER, J. et COUTAUD, J. 1945. *Qualité germinative du pollen de quelques variétés de pommiers a couteau et a cidre et de poiriers a poiré*. Ann. Agron. Paris 15: 365-78. (Resumen n° 58 en Hort. Absts. 17: 8. 1947).
- TSUNG-LE LOO and TSUNG-CHEN HWANG. 1944. *Growth stimulation by manganese sulphate, indole-3 acetic acid and colchicine in pollen germination and pollen tube growth*. Amer. Jour. of Botany 31 (6): 356-67.
- WATKIN. 1925. *Cotton Blue-Lacto-phenol Method*. Journal of Genetics 15: 340. (Resumen en «The Microtommist's Vade-Mecum (Bolles Lee)», p. 177. P. Blakiston's Son and Co. Inc. Tenth Edition, 784 pp. Philadelphia. 1937.
- WELLINGTON, RICHARD. 1927. *The results of cross-pollination between different varieties of apples, pears, plums and cherries*. Mem. of the Hort. Soc. of New York 3: 165-70.



Fotomicrografía de un trozo de pistilo de la variedad King David, polinizada por Delicious. Puede verse sobre el estigma gran cantidad de granos de polen, muchos de ellos sin germinar. Pueden observarse también los haces fibrovasculares que recorren longitudinalmente el pistilo, y además, como líneas más netas de trazo sinuoso, un conjunto de tubos polínicos que se han desarrollado a través del tejido conductivo. Algunos de ellos presentan sus extremidades abultadas  
Tomada en el Laboratorio de Fotografía de la Facultad. (Aumento aproximado 60 x ).

## SECCION BIBLIOGRAFICA

---

MARCHIONATTO, JUAN B.: *Tratado de fitopatología*, Buenos Aires, Librería del Colegio, 1948. 537 Págs. Ilus.

Este libro es una de las pocas obras escritas en castellano en América que viene a llenar una necesidad en la literatura fitopatológica sobre todo para aquel que desee conocer los principios generales de la fitopatología, sea estudiante, técnico o profesional agrícola, salvando las dificultades que presentan los textos escritos en idiomas extranjeros.

Su autor, profesor titular de Fitopatología en la Fac. de Agr. y Veterinaria de la Universidad de Buenos Aires y actual Director General de Sanidad Vegetal y Acridiología en el Ministerio de Agricultura, es una figura destacada en la ciencia fitopatológica, sobresaliendo por su espíritu investigador y organizador en la materia, siendo autor de múltiples trabajos de su especialidad.

La obra abarca en forma compendiada, el plan que se sigue en el curso de Fitopatología, que dicta el autor en la Universidad de Buenos Aires, desarrollado en 16 capítulos, cuyos títulos principales son: Historia de la fitopatología. Estudio de la enfermedad — Parásitismo e inmunidad — Cooperación internacional en la Sanidad de los vegetales — Bacterias fitopatógenas — Enfermedades provocadas por bacterias — Hongos fitopatógenos — Enfermedades provocadas por los hongos — Fierogamas parásitas — Enfermedades de virus — Enfermedades provocadas por los virus — Enfermedades fisiogénicas — Enfermedades provocadas por agentes fisiogénicos — Terapéutica vegetal — Preparados comerciales — Preparados caseros.

El capítulo primero se refiere a la historia de la fitopatología en el mundo, dedicando preferente atención al desarrollo que le corresponde a la Argentina. Señala la evolución desde la era antigua, hasta los tiempos actuales y cierra este capítulo reseñando la importancia económica que tienen las enfermedades, como así los daños que son capaces de producir y repercusión sobre la economía de un país.

El segundo capítulo, ocupa el estudio de la enfermedad en sí, analizando las definiciones que se le han dado al respecto, refiriéndose acto seguido a la sintomatología y deteniéndose a considerar las diversas clasificaciones que se han realizado al respecto.

Pasa luego a considerar la Etiología que define, analizando los factores que intervienen en su producción, enunciando los postulados de Koch. Concluye con lo relativo a la saprogenesis y patogenisis, con sus tres períodos que la distinguen: inoculación, incubación e infección.

En la parte relacionada a la epifitología, el autor se ocupa de la relación entre el medio y el desarrollo de una enfermedad, influenciada por múltiples factores; climáticos, edáficos, etc.

Cierra el capítulo ocupándose del control, dando a conocer los principios en que se basa: exclusión, erradicación, protección e inmunización.

El capítulo tercero lo dedica exclusivamente al parasitismo e inmunidad, haciendo consideraciones sobre el particular, dedicando párrafos relacionados a las acciones parasitarias, virulencia. En cuanto a inmunidad se ocupa de la inmunidad natural o congénita y de la inmunidad adquirida o provocada, las cuales trata ampliamente dando ejemplos. El cuarto capítulo considera la cooperación internacional en la sanidad de vegetales, haciendo consideraciones sobre cuarentenas externas e internas.

El capítulo quinto lo dedica como introducción al estudio de las bacterias fitopatógenas, dando a conocer las características morfológicas y fisiológicas de las mismas, así también su sistemática.

Las enfermedades producidas por bacterias fitopatógenas, son descriptas con sus detalles, sintomatología, control, etc., en el capítulo sexto.

Lo mismo ocurre para con los hongos fitopatógenos, los cuales luego de tratarlos en sus generalidades en el capítulo VII, desde el punto de vista morfológico y reproductivo-etiológico-etc., da a conocer una clave para su clasificación general. La descripción de las diversas enfermedades provocadas por dichos microorganismos es realizada en el capítulo siguiente o sea el VIII, de la misma manera que para las bacterias fitopatógenas.

Prosiguiendo con otras enfermedades producidas por otras causas, describe en el capítulo IX a todas aquellas provocadas por parásitos vasculares, o sea por plantas superiores desprovistas de clorofila, o por algún órgano especial. Las enfermedades de «virus» son objeto también de especial atención en el capítulo X y XI. En el primero se dan a conocer generalidades sobre los mismos: naturaleza, propiedades físicas y biológicas, como así su trasmisibilidad y nomenclatura. En el otro capítulo se les describe dando a conocer su sintomatología, etiología y control.

Los capítulos XII y XIII, están dedicados pura y exclusivamente a las enfermedades fisiogénicas, es decir, a las producidas por agentes fisiogénicos o inorgánicos, de naturaleza inanimada.

El autor describe diversas de ellas, dando a conocer sus características, síntomas y forma de evitarlas.

Los capítulos XIV, XV y XVI, se relacionan a la terapéutica vegetal, preparados comerciales y preparados caseros, en los que el autor sintetiza todo lo relacionado con la lucha química contra las enfermedades haciendo conocer los principales productos, empleados como desinfectantes, desinfectantes protectivos, esterilizantes, fungicidas gaseoso, dando diversas fórmulas caseras comunmente empleadas.

Pone fin a la obra una amplia lista bibliográfica, como así, un glosario aclaratorio de la terminología fitopatológica empleada. CÉSAR CARRERA.

PIRES, ANTONIO: *Tratado de las enfermedades del pie del caballo*. Buenos Aires, Editorial Guillermo Kraft Ltda. 1949. 350 páginas, ilustraciones, (fots.).

El tratado de las enfermedades del pie del caballo, escrito por el Profesor Antonio Pires, titular de Patología Quirúrgica y Podología de la Facultad de Agronomía y

Veterinaria de Buenos Aires, viene a satisfacer una necesidad sentida por los estudiosos, los prácticos y los estudiantes, que diariamente deben meditar sobre los misterios que les oculta esa caja de secretos, representada por el casco. Pero aparte de cumplir esa finalidad ha de enriquecer nuestra bibliografía con una obra magistral, escrita en lenguaje claro, planteada y realizada de acuerdo a un orden racional, siempre con miras a su aplicación inmediata, que es la clínica y teniendo como fundamental preocupación el lograr una correcta asimilación por parte del lector no especializado y plantear al especialista, con profundidad y exactitud, problemas que estimularán su deseo de investigar mediante la observación y la experimentación. Para cumplir con esa serie de exigencias, ha contado el Profesor Pires, con su larga experiencia clínica, su profunda erudición de patólogo y su original inspiración pedagógica. La primer condición, le permite exponer lo realmente eficaz en materia de tratamiento, combinando los procedimientos antiguos con las últimas adquisiciones de la terapéutica médica, como los antibióticos y los antihistamínicos sintéticos o aconsejar métodos quirúrgicos y variantes propias, en las diversas operaciones, así como señalar, con precisión, las medidas terapéuticas o paliativas más eficaces en cada caso. Por su versación en patología, ha podido sintetizar las numerosas opiniones vertidas sobre temas aún en discusión, agregando conceptos propios sobre múltiples cuestiones relacionadas con la etiología y patogénia de algunas enfermedades. En el aspecto didáctico, el maestro, mostrando inspiración y acierto, expone los tópicos en forma ordenada, con expresiones exactas, y teniendo en cuenta que es preciso recordar ciertas nociones, especialmente de anatomía y fisiología mecánica, para una mejor comprensión, las enseña con estilo claro y sentido práctico.

Consta el libro de un primer capítulo, donde el autor se refiere a generalidades sobre la importancia, frecuencia, etiología, sintomatología, etc. de las enfermedades del pie y se detiene especialmente en el diagnóstico, donde explica todos los recursos semiológicos y analiza ampliamente síntomas fundamentales, tales como el dolor, las disformosis de la uña y los trastornos funcionales. Al hablar de la anestesia como auxiliar del diagnóstico, señala con exactitud los casos en que resulta útil practicar la de los sinoviales del pie, explicando correcta y minuciosamente la técnica para lograrla. También formula consideraciones sobre pronóstico y tratamiento en general. En los restantes capítulos, estudia las enfermedades del pie agrupándolas de acuerdo a una clasificación basada en su etiología, evolución, extensión y localización, criterio que le permite mantener constantemente, la atención del lector vinculada con los problemas que se le van presentando en la práctica, dando en cada caso, la solución de los mismos, mediante los recursos que el profesional puede utilizar para resolverlos. Al describir las diversas entidades mórbidas, respeta el planteo clásico, pero al definir las, fija de inmediato sus principales características clínicas y en muchos casos señala las lesiones anatómicas y las dismorfosis que ellas determinan, cuando con eso se logra ampliar el concepto.

Establece la frecuencia en base a una estadística sobre más de 15.000 enfermos y en lo referente a la etiología, dedica especialmente al estudio de las causas predisponentes, sobre cuyo conocimiento se basa, en muchos casos, la profilaxis, especialmente cuando las causas determinantes no son bien conocidas o conociéndolas, no es posible evitarlas, como ocurre con las gravitaciones y reacciones de gran intensidad que sufre el pie en los deportes hípicos modernos. Guía el lector con seguridad en aquellas enfermedades cuya etiología no está aun dilucidada y no es posible todavía descartar hipótesis, explicando en forma objetiva y exponiendo, como en el caso de la teoría histamínica en la infosura, los resultados de sus experiencias sobre el ele-

mento presente en la sangre, durante el ataque agudo, el que difiere de la histamina, por su forma de comportarse al ser inyectado al cobayo. Al tratar el diagnóstico, plantea el problema clínico que se crea, cuando se procura establecer la relación que pueda existir entre determinada enfermedad, cuyo diagnóstico surge de la sintomatología local y el síntoma claudicación, que puede en muchos casos depender de otras localizadas en el pie o fuera de él. Así logra una vez más, vincular constantemente la nosología con la clínica, logrando uno de los mayores aciertos didácticos.

El pronóstico es cuidadosamente formulado, luego de analizar los diversos factores que pueden influir sobre el juicio, sin olvidar el económico, en relación con las condiciones de explotación y utilización del equino en las diversas actividades de nuestro medio.

Cuando se refiere al tratamiento, efectúa una amplia reseña de los recursos terapéuticos que, de acuerdo a su experiencia, considera de real utilidad, teniendo siempre presente las posibilidades y limitaciones que impone el ambiente donde el profesional desempeña sus funciones.

Todo lo que puede ser ilustrado, dentro de una obra de tan amplio alcance, ha sido tenido en cuenta y este es otro de los grandes valores pedagógicos del libro, especialmente por el acertado criterio en la elección, la originalidad, la magnífica ejecución y el prodigioso número de fotografías y dibujos que dan carácter objetivo a muchos capítulos difíciles, donde la claridad del texto se acentúa con tan extraordinario material gráfico.

En resumen, es un libro que está a la altura de los clásicos en esta especialidad, por la exactitud y profundidad con que se tratan los diversos temas y ofrece al lector un panorama claro y conciso del estado actual de los conocimientos sobre la patología del pie del equino, basado en la experiencia del autor y en el examen de un inmenso material bibliográfico, representado por artículos publicados en revistas nacionales extranjeras, trabajos existentes en diversas bibliotecas del país y numerosas obras consultadas, cuya nómina figura en los respectivos capítulos y en una lista al final del texto. CONSTANTINO BRANDARIZ.

CONFERENCIA INTERAMERICANA DE SANIDAD VEGETAL. BUENOS AIRES, 20 a 25 de septiembre de 1948; resoluciones, actas, convenio. Ministerio de Agricultura, 1949. 119 Págs.

Esta publicación reseña lo actuado en la Conferencia Interamericana de Sanidad Vegetal, reunida en Buenos Aires en septiembre del año ppdo., bajo la presidencia del delegado argentino Ing°. Agr°. Prof. Juan B. Marchionatto, con el propósito de «establecer los principios sanitarios que se observarán en el comercio interamericano de productos agrícolas, aconsejar el tratamiento a seguirse entre los países que tengan áreas de dispersión continuas o discontinuas para las plagas de la agricultura, facilitar el intercambio de técnicos e informaciones y coordinar los trabajos de lucha».

El folleto de referencia contiene además el texto de un nuevo Convenio Interamericano de Sanidad Vegetal, que consideramos como el objeto principal de la citada Conferencia y que ha sido subscripto por Argentina, Brasil y Uruguay, adhiriéndose luego Bolivia, Chile y Perú. Como anexo del Convenio se encuentra un modelo de certificado fitosanitario y de origen, al que se hace mención en el art. 6° del mismo.

Las comisiones designadas por la mesa directiva de la Conferencia elaboraron varias «recomendaciones» de gran utilidad para los países concurrentes, las que se encuentran en las actas publicadas desde páginas 105 a 111.

En la reunión de clausura, se resolvió fijar Río de Janeiro como sede de la futura conferencia a realizarse dentro de 5 años.

Dada la importancia que tiene el Convenio de referencia, pues facilitará la mutua cooperación en las medidas sanitarias, que emprenderán las naciones signatarias y las que posteriormente se adhirieron, se ha considerado útil transcribir el texto íntegro de dicho Convenio.

*Artículo 1º.* — Los gobiernos de los países contratantes se comprometen a tomar las medidas legislativas y administrativas necesarias para asegurar una acción común y eficaz contra la introducción y extensión de las plagas de la agricultura.

Estas medidas deberán tender especialmente:

- 1) A comprobar la aparición y extensión de las plagas de la agricultura y denunciar su existencia a los países contratantes;
- 2) A combatir las plagas de la agricultura;
- 3) A reglamentar el transporte, embalaje y envasado de las plantas y sus partes.

*Artículo 2º.* — Se entiende por plaga de la agricultura, para los efectos del presente Convenio, cualquier organismo vivo, animal o vegetal, o de naturaleza infecciosa como los virus, perjudiciales a las plantas o sus partes.

*Artículo 3º.* — Para asegurar el cumplimiento de las medidas previstas en el artículo 1º., en cada uno de los países contratantes, se organizarán servicios oficiales de sanidad vegetal.

Estos servicios comprenderán, por lo menos:

- 1) Un establecimiento de investigación para el estudio de las plagas de la agricultura;
- 2) Un servicio para certificar el estado sanitario de los productos agrícolas destinados a la exportación.

Los países contratantes se comprometen a establecer estos servicios a la mayor brevedad, cuando no los posean.

*Artículo 4º.* — Los países contratantes no admitirán la importación de las plantas o sus partes si no están acompañadas del certificado fitosanitario a que se alude en el artículo 6º., expedido por las autoridades oficiales competentes. El país importador podrá prescindir de tal requisito cuando lo considere conveniente. La importación se realizará únicamente por los puertos y aduanas habilitadas al efecto, lo que el país importador hará conocer al país exportador.

*Artículo 5º.* — Cada país conservará el derecho de inspeccionar, de poner en cuarentena las plantas o sus partes, o de prohibir su importación temporaria, aunque los envíos vayan acompañados del certificado fitosanitario. El país que prohíbe la importación debe dar a conocer los fundamentos de esa medida al país exportador. Cuando los envíos lleguen en malas condiciones sanitarias, serán sometidos a los tratamientos profilácticos que exijan las reglamentaciones existentes en el país importador. En caso de destrucción o reembarque se labrará un acta, de la que se dará conocimiento al país exportador.

*Artículo 6º.* — Los certificados fitosanitarios serán redactados conforme al modelo anexo a este Convenio. En estos certificados deberá especificarse que las plantas o

sus partes amparadas por los mismos, se hallan libres de la plaga de la agricultura contra las cuales desea protegerse el país importador.

*Artículo 7º.* — Los países contratantes no podrán excluir, por razones de defensa sanitaria, las plantas o sus partes que procedan de una región o territorio determinado, cuando no respondan a las condiciones siguientes:

- 1) Existencia efectiva, en el país exportador, de plagas peligrosas;
- 2) Necesidad real para el país importador de proteger sus cultivos constituídos por plantas notoriamente huéspedes de dichas plagas.

Se consideran plagas peligrosas a las que no existiendo en el país importador, son muy perjudiciales económicamente en el país exportador.

Esta prohibición durará mientras no se haya probado a satisfacción de las partes, que dicha región o territorio está libre de la contaminación de la plaga.

*Artículo 8º.* — Los países contratantes se comprometen a no prohibir la importación de las plantas o sus partes procedentes de regiones o territorios determinados libres de plagas, en razón de que existan ellas en otras regiones o territorios del país exportador, cuando se compruebe a satisfacción de las partes que aquellas no están expuestas a ser contaminadas.

*Artículo 9º.* — Las plantas o sus partes que lleguen a un país en tránsito internacional, serán inspeccionadas «de oficio» y a los efectos de que no puedan contaminar la zona que atraviesen durante su trayecto. Sólo en el caso de encontrarse atacadas de cualquier plaga se someterán a los tratamientos prescriptos en el artículo 5º.

*Artículo 10º.* — Los países contratantes limítrofes que tienen áreas de dispersión continuas para las plagas de la agricultura, podrán ponerse de acuerdo para facilitar el intercambio de las plantas o sus partes.

*Artículo 11º.* — El intercambio de enemigos de los vegetales o huéspedes atacados para fines de estudio, queda limitado a las especies cosmopolitas y reconocidas como no peligrosas. En todos los casos los envíos serán autorizados por el gobierno del país importador, y en condiciones que ofrezcan garantías absolutas de seguridad.

*Artículo 12º.* — Los países contratantes coordinarán la defensa contra las plagas de la agricultura, prestándose ayuda mutua y facilitando la información, el personal técnico y medios de lucha de que dispongan. Además, publicarán un boletín donde se registren cronológicamente las principales actividades que desarrollen en materia de sanidad vegetal, para que sirva de órgano de intercambio informativo.

*Artículo 13º.* — La aplicación del presente Convenio se realizará directamente entre los servicios técnicos oficiales de los países signatarios.

*Artículo 14º.* — En caso de disconformidad en la interpretación de las cláusulas establecidas en el Convenio, o si fuere necesario discutir medidas tomadas por un país que afecten a otro, se someterán las diferencias a una comisión mixta integrada por dos representantes de cada una de las partes contratantes, la que propondrá las medidas que deban aplicarse para resolver las diferencias.

*Artículo 15º.* — Cada cinco años se llevará a cabo una conferencia interamericana, en la que se estudiarán todos los problemas de interés internacional concernientes a la sanidad vegetal. En cada conferencia se elegirá el país en que se llevará a cabo la siguiente, debiendo el gobierno del país elegido para ello, proceder a la convocatoria de la misma con anterioridad de seis meses a la fecha que fije para su realización, encargándose asimismo de la confección y oportuna distribución del temario. La fecha de la reunión podrá adelantarse a simple pedido de uno de los países signatarios que

tuviera interés en ello, solicitándolo al gobierno en donde debe llevarse a cabo la misma, en cuyo caso este gobierno lo hará saber a los demás adherentes del presente Convenio.

*Artículo 16°.* — El presente Convenio queda abierto para que puedan adherirse otros países de América que no lo hayan suscrito, y acepten todo lo concertado en el mismo. La adhesión será notificada por vía diplomática al gobierno de la República Argentina y, por medio de éste, a los otros países signatarios.

*Artículo 17°.* — El presente Convenio será ratificado de acuerdo a la legislación de cada uno de los países contratantes, y los respectivos instrumentos de ratificación serán depositados en el Ministerio de Relaciones Exteriores y Culto de la República Argentina en el más breve plazo posible, haciendo este depósito las veces de canje.

Huelga hacer mayores comentarios sobre esta Conferencia, por cuanto el valor extraordinario de los resultados de la misma sobrepasa en forma muy notable, si tenemos presente la necesidad imperiosa y urgente de racionalizar las medidas sanitarias adoptadas por varios Gobiernos en el comercio internacional que, muchas veces, tienden más que impedir la introducción de una plaga, a establecer verdaderas barreras aduaneras contra la importación de determinados productos agropecuarios. CLOTILDE JAUCH.

MAVEROFF, AQUILES: *Enología*, Mendoza, Talleres Gráficos J. Best, 1949. 511 Págs. Ilus.

Una sentida necesidad en la literatura técnica de habla española, ha venido a llenar el libro del epígrafe.

El valor de esta obra es grande por ser una de las pocas que hasta ahora se han escrito sobre la Enología de nuestro país, no solamente descriptiva, sino, y en ello reside su valor intrínseco, por los sólidos fundamentos teóricos en que está basada, de manera que resultan aclarados o por lo menos bosquejados todos los problemas que se le pueden presentar al técnico en la bodega.

La forma en que tan admirablemente se han coordinado la teoría con la práctica, dice del conocimiento que tiene el autor sobre la materia que le ha permitido en algunos casos, crear métodos nuevos de verdadero interés práctico: nos referimos en especial al tratamiento de la quebradura férrica.

La obra comprende los siguientes capítulos: La bodega. Vasija vinaria. — La uva. — La vendimia. — La fermentación alcohólica. — Composición química de mosto y del vino. — Técnica de la fermentación. — Cuidados del vino. — Correcciones del vino. — Abrillantamiento del vino. — Enfermedades. Conservación del vino. — Añejamiento. — Degustación o catación. — Valor fisiológico y alimenticio del vino. — Caracteres y clasificación de los vinos. — Productos analcohólicos.

Son especialmente interesantes los capítulos sobre fermentación, clarificación y añejamiento, los cuales están expuestos tan bien que nos dan a conocer en forma clara y sencilla los actuales conocimientos sobre los mismos. JOSÉ TESTA.

SERGENT, EDMONDS; DONATIEN, A.; PARROT, L. ET LESTOQUARD, F.: *Eludes sur les piroplasmoses bovine*, Alger, Institut Pasteur d'Algérie, 1945. 816 Págs.

Los autores desde hace unos 30 años que estudian el tema y publican algunas observaciones en: Bull. Soc. Path. Exot. Ann. Inst. Pasteur., Inst Pasteur d'Algérie, Soc. Arg. Pat. Reg. N. etc.

La primera parte de la obra trata de generalidades, define los protozoarios que producen la piroplasmosis bovinas y los Artrópodos que las transmiten en Africa del Norte.

Los Hematozoarios estudiados por los autores en Argelia se elevan a 17, perteneciendo a 3 familias: Piroplasmidae, Theileridae y Anaplasmidiae. Correspondiendo a los 4 géneros siguientes:

- 1) *Piroplasma bigeminum*: Cepas de Africa del Norte
  - » » México
  - » » Argentina

- 2) *Babesiella berbera*: Cepa de Africa del Norte
  - Babesiella bovis*:
    - Cepa de Francia
  - Babesiella mayor*:
    - Cepa de Francia
  - Babesiella argentina*:
    - Cepa de Brasil
    - » » México

- 3) *Theileria dispar*: Cepa de Africa del Norte
  - » » Palestina
  - » » Irán

*Theileria parva*:  
Cepa del Africa del Sur

*Theileria mutans*:  
Cepa del Africa del Norte

- 4) *Anaplasma marginale*: Cepa del Africa del Norte
  - » Argentina
  - » Brasil

*Anaplasma centrale*: Cepa del Africa del Sur

Los Ixodideos (garrapatas) transmisores de los Protozoarios citados —comprobados por los mismos autores— son:

*Ixodes ricinus* L. 1758 (transmite Babesielosis).

*Hyalomma aegypticum* L. 1758.

» *lusitanicum* (Koch 1844) (transmite Anaplasmosis).

» *mauritanicum* Seneves 1922 (transmite Theileriasis).

*Boophilus annulatus calcaratus* Birula 1895 (trans. Piroplasma verdadero y Babesielosis).

*Rhipicephalus sanguineus* Latreille 1804.

*Rhipicephalus bursa* Canestrini et Fanzago 1878 (transmite Piroplasma verdadero Beabesielosis y Anaplasmosis).

*Haemaphysalis punctata* Canestrini et Fanzago 1878.

Con las 8 especies de garrapatas que mencionamos realizaron estudios taxonómicos y bionómicos de interés parasitológico.

Una parte de la obra se relaciona a la técnica de estudio y descripción de las 5 piroplasmosis bovinas del Africa del Norte. Realizando experiencia con estos piroplasmas y especies bovinas observadas en otros países. Los caracteres comunes y propios de estos parásitos son: vivir en los glóbulos rojos —por lo menos en un estado de su ciclo evolutivo—. No tienen pigmentos. Subsisten en forma latente durante varios años en el organismo de los bovinos. Son transmitidos por las garrapatas —a este respecto los Anaplasmas tienen algún punto oscuro—. Para los Piroplasmas se cumple su ciclo asexual en el vacuno y otro sexual en la garrapata.

El examen de 13.000 leucocitos permite constatar la siguiente fórmula leucocitaria de vacunos sanos e indicados para las investigaciones de que se trata: basófilos 1, eosinófilos 10, neutrófilos 22, monocitos 7,5, linfocitos 59,5.

Practicáanse exámenes microscópicos de materiales obtenidos por punción de bazo, médula ósea, ganglios, hígado, etc.

Prueban que las cepas de *Piroplasma bigeminum* de Argelia, Argentina y México, pertenecen a la misma especie y solo se diferencian por la virulencia.

*Babesiella berbera* de Africa del Norte, *Babesiella bovis* y *Babesiella mayor* de Europa, constituyen 5 especies diferentes morfo y biológicamente.

*Babesiella berbera* de Africa del Norte y las cepas brasileñas y mexicanas de *Babesiella argentina* son iguales morfológicamente, pero, resultan diferentes en las pruebas de premunición cruzada.

En materia de tratamientos obtienen buenos resultados con el Tripanblau para las piroplasmosis, mejores resultados aún con la combinación de Zothelone (acaprina) e Ichtargan. La gonacrina, Trypaphavina da resultados muy irregulares.

De las 5 piroplasmosis bovinas algerianas, 4 solamente son patógenas: piroplasmosis a *Piroplasma bigeminum*, babesielosis a *Babesiella berbera*, theileriosis a *Theileria dispar* y Anaplasmosis a *Anaplasma marginale*, la quinta piroplasmosis, la theileriosis a *Theileria mutans* no es patógena.

En 19 campañas de premunición anti-piroplásmicas hechas en Africa del Norte en 36.000 vacunos permitieron comprobar que sólo 1 % de los animales premunidos morirían. En tropas semejantes colocados en las mismas condiciones los animales no tratados morían por piroplasmosis en proporción de 16 veces más. RODOLFO J. ROVEDA.

VIENNOT, G.: *Les Champignons Parasites des Plantes Cultivées*, París, Masson & Cie., 2 tomos, VI-VII: 1-1851 Págs., 1949. Ilustrado.

El autor de esta obra, que se ocupa desde hace muchos años de los hongos parásitos de los vegetales, dá a conocer las criptógamas más importantes de las plantas cultivadas en Francia y sus colonias, en dos tomos convenientemente ilustrados en el texto, con fotografías y dibujos, la mayor parte de ellos originales.

Parté de la base que tiene en patología vegetal el buen conocimiento del agente patógeno y su posición sistemática, aunque sin descuidar por ello, la sintomatología que presentan las plantas atacadas, la patogenia y el control de la enfermedad.

Destaca la importancia que representa para el estudio del parasitismo, el comportamiento de los hongos en las plantas silvestres, las que, por no estar expuestas como

las cultivadas a las variaciones de los factores culturales, permiten comprender mejor las relaciones del huésped con el parásito.

Además, el comportamiento pleóforo de la mayor parte de las criptógamas parásitas, exige considerar a los hongos en sus adaptaciones parasitarias a huéspedes múltiples (espontáneos o cultivados), y no simplemente a la enfermedad que provoca en una definida planta cultivada.

Es sobre tales ideas que la obra está realizada, describiéndose, en forma sistemática, las criptógamas parásitas de las plantas, mixomicetas, arquimicetas, ficomicetas y eumicetas (ascomicetas, basidiomicetas y adelomicetas).

De cada especie, y por la interdependencia que tienen las formas asexuadas y sexuadas dan los nombres y sinónimos principales de ellas, siguiendo en la denominación las reglas de nomenclatura.

La descripción de los parásitos se hace en su «habitat» natural y en las plantas infectadas naturalmente y se completa con las informaciones de los trabajos hechos en otros países. Estas descripciones se complementan con el estudio de la enfermedad, su desarrollo y extensión, importancia económica y medios de lucha.

La obra termina con un importante índice bibliográfico de las publicaciones consultadas y con un índice alfabético que incluye las especies parásitas, plantas huéspedes y nombres de las enfermedades.

Se trata de una publicación bien impresa y cuya consulta será muy útil a los estudiantes, agrónomos e interesados en fitopatología. J. B. MARCHIONATTO.

GALLI, ARTURO: *Pagine di ostetricia e ginecología veterinaria*, Pisa-Roma, Vallérini editore, 1948. 186 Págs., Ilus.

«Pagine di Ostetricia e Ginecologia Veterinaria», de que es autor el profesor Arturo Galli, Director del Instituto de Cirugía y Obstetricia Veterinaria de la Universidad de Pisa, constituye un nuevo aporte bibliográfico al estudio de los problemas de la obstetricia y de la ginecología veterinaria, que con frecuencia enfrenta el médico veterinario vinculado a las explotaciones pecuarias.

El autor expone ordenadamente el fruto de su experiencia formulando indicaciones prácticas para el mejor éxito en el tratamiento de las enfermedades más comunes relacionadas con la gestación, el parto distócico por causa materna y particularmente aquellos de origen fetal que requieren la aplicación de mutaciones, maniobras e instrumental especial.

La obra del profesor Galli, según propia definición, —«no pretende ser un texto sobre la materia»— es una guía práctica muy útil para estudiantes y colegas dedicados a la clínica y que actúan en cabañas y granjas. O. M. NEWTON.

TAYLOR, H. V.: *The apples of England*. 3d. Ed. London, Crosby Lockwood and son, Ltd., 1948. 218 Págs., Láms. color.

Esta obra es la tercera edición que aparece doce años después de la primera sin introducir modificaciones de mayor trascendencia, salvo la inclusión de fotografías en colores de treinta y seis variedades de manzanas, lo que da singular realce a la descripción pomológica.

«The apples of England» abarca en su desarrollo dos partes, siendo la primera dedicada a consideraciones generales acerca del significado del término «variedad» considerado del punto de vista pomológico. Pasa luego a estudiar el origen de las principales «variedades» en Inglaterra introduciéndose así en un capítulo muy interesante de la historia de ciertas variedades clásicas en aquel país.

Los capítulos siguientes incluídos en la primera parte comprenden el estudio de las principales características pomológicas que se estudian en la descripción de una determinada «variedad»: planta, hojas, flores y frutos, cromosomas y su influencia en la transmisión de los caracteres hereditarios. Este capítulo concluye con las aplicaciones de las manzanas de distintas variedades para consumo en estado fresco, uso culinario, elaboración de sidra, etc.

En la segunda parte se agrupan las distintas variedades consideradas en la obra de acuerdo a sus características de coloración más salientes y luego en forma detallada y por orden alfabético se describen en su totalidad y concisamente más de quinientas variedades, muchas de origen europeo y desconocidas en nuestro ambiente, pero cita y describe además buen número de variedades americanas y australianas, en especial aquellas que han adquirido ya renombre universal por la difusión comercial que han logrado.

Es esta una obra muy interesante para el pomólogo o especialista y un texto de consulta para el fruticultor que puede proporcionarle referencias interesantes.

Las fotografías en colores complementan las descripciones admirablemente y su mayor valor reside en que el material utilizado en su preparación procede de las plantaciones de East Malling lo que asigna a las mismas un origen fidedigno intachable. E. SARTORI.

PROBISHER, MARTÍN: *Elementos de bacteriología*. Traducido de la 3ª. Ed. inglesa por el Dr. J. Estellés. Barcelona, Salvat editores, 1947. 333 Págs., Ilus., Láms.

Este libro del Profesor Asistente de Bacteriología de la Johns Hopkins University, constituye un apropiado elemento de consulta para estudiantes de ciencias biológicas. El conjunto está formado por 47 capítulos y finaliza con una parte titulada «Notas del traductor» en donde, siguiendo el estilo del autor, se informa sobre modernos tópicos, entre ellos las nuevas sulfonamidas y antibióticos.

La lectura de los distintos capítulos resulta agradable, contribuyendo eficazmente a la comprensión de los temas tratados, numerosos grabados, algunos de ellos merecedores de elogios.

Evidentemente el desarrollo de cada capítulo ha impuesto algunas supresiones, pero ellas no alteran el carácter didáctico de la obra y aun permiten poner de relieve el extraordinario esfuerzo de síntesis cumplido por el autor. En general el concepto fundamental prevalece ostensiblemente en cada uno de los capítulos, lo accesorio ha sufrido una apreciable reducción y cuando corresponde se han agregado aportes científicos de última data.

La obra no se ha centralizado en los agentes microbianos de enfermedades, su objeto es más amplio y así el estudiante, el industrial, etc. seguramente hallarán en ella valiosa información. Por sobre todo este libro ayuda a situar al lector en el mundo microbiológico. Las bacterias, virus, rickettsias, organismos de la pleuroneumonía y aún protozoarios, que presentan específico interés para el estudiante de medicina veterinaria, están tratados con las justas limitaciones que impone la preparación de un libro de esta naturaleza. J. J. MONTEVERDE.

CONDIT, IRA J.: *The Fig*, Waltram, Mass., Crónica Botánica co., Acme Agency. B. Aires, 1947. 222 Págs. Ilus. (*A new series of plant science books*), v. 19. v. § 35.—

La editorial Chronica Botánica de Estados Unidos ha tenido la feliz iniciativa de publicar la obra del Profesor Ira J. Condit, titulada «The Fig». En realidad ni hace falta indicar el título de la obra, pues quien está familiarizado con Mr. Condit, lo vincula indisolublemente con el estudio de la higuera. En efecto, este autor ha consagrado treinta años, la mayor parte de su vida profesional, al estudio de este frutal. Ya en 1923, visitó los principales centros de producción de higos del Viejo Mundo, viajando por Argelia, Italia, Grecia, Turquía, España, Portugal y Sur de Francia. El acopio de conocimientos allí adquiridos le sirvieron más tarde de base para sus ininterrumpidos estudios en la estación experimental de Riverside, que pertenece a la Universidad de California.

La obra que comentamos, con su riquísima bibliografía, que enumera 672 títulos, no trata los pequeños detalles prácticos del cultivo, que tendrían más bien valor local, sino las bases esenciales de carácter científico, que interesan por igual a los estudiosos y a los fruticultores esclarecidos.

El carácter de esta obra semeja, así a una enciclopedia sintética sobre la higuera, sin seguir un orden alfabético. Su panorama abarca todos los aspectos de este importantísimo frutal.

Comienza la obra con el capítulo «La higuera en las canciones y en la historia, continúa con la historia y la distribución botánica, sistemática, caprificación, fitotecnia, características de las frutas, variedades de higueras, cultivo, diversas formas de industrialización, valor alimenticio, economías y comercialización, enfermedades, insectos y otras pestes.

Se ve por los citados capítulos que se trata de una obra exhaustiva, de alto valor científico y práctico. ISAAC P. GRÜNBERG.

PERROT, EMILE: *Manuel de phytopharmacie. V. 2: Les parasites ou déprédateurs animaux*, PAR G. VALETTE ET R. CAVIER, *Les parasites d'origine végétale*, par L. Lutz. París, Masson y Cie., 1948. 368 Págs., Ilus.

El tomo II, de 368 páginas y numerosas ilustraciones, comprende dos partes: la primera, redactada por el profesor G. Valette y el asistente R. Cavier, trata de los parásitos y predadores animales y la segunda se debe al profesor honorario de la Facultad de Farmacia de París, L. Lutz, quien se refiere a los parásitos de origen vegetal.

En el capítulo primero de la primera parte presentan los autores un esbozo resumido de las características morfológicas, reproducción, desarrollo, formas larvales, pupales y clasificación general de los principales grupos sistemáticos que cuentan con representantes dañinos a las plantas, con especial mención de los insectos, aunque también se mentan los miriópodos, arácnidos y nematodos.

En el capítulo segundo ya son tratados más detalladamente los principales parásitos de las plantas económicas, agrupados por órdenes, tales como ortópteros, tisanópteros, hemípteros, homópteros, lepidópteros, coleópteros, himenópteros, dípteros; media página dedican a los miriópodos, tres a los ácaros y otras tantas a los nemátodos, para terminar el capítulo con breves recomendaciones sobre la caza y conservación de los insectos destinados a la determinación.

De cada una de las especies tratadas se dan los caracteres somáticos, biológicos y los medios de lucha, aunque estos últimos son indicados en forma harto somera.

Cabe hacer notar que los autores no toman en consideración las modificaciones habidas en los últimos tiempos en lo que atañe a la sistemática, lo cual dificulta al alumno, y quizás lo confunde, al encontrarse con nombres o categorías taxionómicas antiguas que ya nadie usa.

La segunda parte destinada al estudio de los parásitos vegetales, se inicia con un capítulo especial relativo a las especies dañinas pertenecientes a las fanerógamas, tanto de Europa quanto de las regiones tropicales.

El capítulo siguiente entra de lleno en el estudio de los hongos de las mixomicetas, cuitridíneas, peronosporáceas, perisporiáceas, pirenomicetas, ustilagíneas, uredíneas, himenomicetas e hifomicetas.

El capítulo segundo se dedica con especialidad, al tratamiento de las enfermedades más importantes de las hifomicetas de las que se dan las características morfológicas, biológicas, profilaxis y medios de destrucción.

Sigue un corto capítulo destinado a las enfermedades producidas por ultravirus y el postrero se refiere a las enfermedades causadas a las plantas de cultivo extensivo, tales como cereales, papa, tabaco, leguminosas, remolacha, vid, árboles frutales y forestales, etc.

Como en la primera parte del libro, ésta también termina con ligeros consejos para la recolección de los parásitos en vista de su estudio. L. T.

WACKERMAN, A. E.: *Harvesting Timber Crops*. Primera Edición, 1949. 1 Vol. 437 Págs., 155 figuras, 18 tablas. Editor Mc Graw Hill Book Co. Inc.

Este libro reúne la información más actualizada referente a las operaciones de corta, trozado y transporte de productos forestales en los Estados Unidos de América.

La obra está dividida en cuatro partes: la primera contiene un resumen de las consideraciones previas a la instalación de un obraje; la segunda se refiere a las operaciones de marcación, corta, trozado y pelado de árboles, describiendo y comparando los útiles empleados en las mismas; en la tercera parte se describen los métodos y elementos que se usan para el rodeo y transporte de los productos forestales; los capítulos de la parte cuarta están dedicados a la descripción y discusión de los obrajes, métodos de medida, costo y comercialización de los productos forestales. Contiene también en su última parte, una serie de artículos escritos por personas de reconocida autoridad en la materia, donde se describen prácticas regionales.

La obra está bien ilustrada con fotografías y gráficos demostrativos y constituye sin duda un elemento de consulta de gran valor para todas aquellas personas vinculadas a los problemas forestales.

Sus capítulos dan buena idea del alto grado de perfeccionamiento que han alcanzado en EE. UU. los métodos de obtención de materia prima forestal, lo que se debe especialmente, a la riqueza de sus bosques y a su gran capacidad industrial. En ese sentido los obrajes pueden invertir grandes sumas en la provisión de elementos mecánicos, y como éstos son allí fáciles de conseguir se obtiene un excelente producto elaborado a precios bastantes bajos. L. A. TORTORELLI.

STAPLEY, J. H.: *Pest of Farm Crops*. E. and F. N. Spon Ltd. London, 1949. 23 Ilust., 27 Lám., 325 Págs.

Este libro pertenece a la serie agrícola de la mencionada editorial y tal como indica el autor en el prefacio, que está fechado en septiembre de 1946, ha sido escrito para uso de los agricultores y todos aquellos que se encuentran abocados a los problemas que significan las plagas en el mismo campo.

El texto contiene las plagas agrícolas y hortícolas de Inglaterra, sin considerar las de los frutales y flores, tratando además de los insectos, otros invertebrados que causan daños.

Los siete capítulos que comprenden el volumen han permitido al autor disponer el contenido de acuerdo con la posición sistemática de las especies, que tienen su nombre común y científico, pero sin indicar detalles de sistemática, excepto el agrupamiento por órdenes y familia.

El primer capítulo se refiere a los métodos de lucha, tratados de manera general, indicando, entre otras, la necesidad de conocer el ciclo biológico y relaciones de la plaga con las plantas. Menciona brevemente los insecticidas más comunes y la manera cómo se emplean.

El segundo, referente a insectos, abarca dos terceras partes del tomo y se inicia con una parte general, siguiendo luego con los representantes dañinos de los distintos órdenes. Las especies de mayor importancia económica son ampliamente tratadas, como por ejemplo los «gusanos alambre», *Coleópteros* de la familia *Elateridae*, que abarcan 37 páginas.

Los otros capítulos comprenden, cada uno, a los Arácnidos, Crustáceos, Miriápodos, Moluscos y Nematodos.

La información que el autor da para cada especie se refiere siempre a Inglaterra y termina con lo que el autor denomina «consideraciones prácticas», que es la importancia de la plaga como tal, y los métodos para combatirla, u otras consideraciones cuando no hay método económico para su destrucción; también indica algunas referencias bibliográficas para cada especie.

El tratado termina con un índice de autores y analítico lo cual permite la búsqueda de las plagas, muy pocas de las cuales existen en la República Argentina. MARIO GRIOT.

HUTT, F. B.: *Genetics of the fowl*, New York, McGraw-Hill book company, Inc., 1949. xi, 590 págs. ilustr. (fots.),

El conocido profesor de Avicultura de la Universidad de Cornell y activísimo investigador en el campo de la genética aviar Dr. F. B. Hutt, ha reunido y puesto al día en el precioso volumen del epígrafe los conocimientos actuales sobre la genética de la gallina.

Como bien lo dice el autor en su prefacio, gran parte de estos conocimientos se encuentran dispersos en todo el mundo en publicaciones a veces desconocidas o de difícil acceso aún para los avicultores y para los genetistas que desean saber qué es lo que se hereda y cómo, para luego aplicar este aprendizaje a la cría de mejores razas de gallinas.

Quince capítulos componen la obra que finaliza con una completa lista de los genes conocidos en la gallina, un buen glosario y prolijos índices de autores y materias. To-

dos los capítulos han sido desarrollados con la autoridad que el profesor Hutt nos merece en este campo de las ciencias y tratan los siguientes puntos: 1° Aves domésticas. 2° Citología. 3° Variaciones en el esqueleto. 4° Variaciones estructurales en la piel. 5° Variaciones en el plumaje. 6° Variaciones en el color de la piel. 7° Variaciones en el color del plumaje. 8° Genes letales y caracteres misceláneos. 9° Variaciones en el tamaño del cuerpo. 10° Producción de huevos. 11° Variaciones en huevos. 12° Resistencia genética a las enfermedades. 13° Aspectos genéticos de la reproducción. 14° Ligamento factorial. 15° La genética en la práctica.

La obra ha sido impresa en excelente papel ilustración con 72 tablas y 140 figuras, gran parte de ellas fotografías que ilustran al lector con toda claridad sobre los caracteres que se describen en el texto. J. M. ANDRÉS.

GRUBB, NORMAN H.: *Cherries*, London, Crosby Lockwood and son, Ltd., 1949. viii, 186 págs. láms. col.

El mérito de una nueva obra radica en los hechos nuevos que describe o puntos de vista nuevos que expone. «Cherries» reúne las dos características, y son éstas las que la recomiendan.

Su autor ha estado trabajando más de 30 años en diversas investigaciones pomológicas en East Malling Research Station, Kent, lo que constituye un título honorífico de primer orden.

La región de Kent por otra parte, es en Inglaterra el principal centro de producción de cerezas en ese país.

El autor ha podido así estudiar sobre el lugar tanto los aspectos científicos como los prácticos del cultivo comercial del cerezo.

Mr. Grubb dedica relativamente poco espacio al cultivo, pero en forma sintética trata con maestría los problemas principales de la formación de un monte de cerezos y los cuidados del mismo.

La parte esencial de la obra es la dedicada al estudio de las especies y variedades de cerezos, donde aclara las confusiones de la nomenclatura, indica cómo se estudian y se describen las variedades de cerezos y da una clave para su identificación. Más de cien páginas ocupan las descripciones de las variedades, lo cual hace esta obra muy útil para pomólogos y viveristas.

Muchas de las variedades descritas, de origen europeo, merecen ser experimentadas y difundidas en nuestro país. ISAAC GRÜNBERG.

BURTON, W. C.: *The potato; a survey of its history and factors influencing its yield, nutritive value and storage*. London, Chapman and Hall Ltd., 1948. xiv, 319 páginas, lám.

Esta obra presentada en un volumen de 319 páginas, está dividida en 10 capítulos. En ellos, se explican, en forma clara y precisa, distintos aspectos que comprenden desde la introducción e historia de la papa en las Islas Británicas, hasta el almacenamiento de los tubérculos.

Están muy bien tratados, en especial, los factores que influyen sobre el rendimiento,

valor nutritivo y almacenamiento de papas. Al final de cada capítulo una abundante bibliografía completa el tópico desarrollado en el mismo.

Completan esta obra 25 ilustraciones, tres apéndices y 3 índices.

Es un libro útil, especialmente para todos aquellos que se interesan por problemas relacionados con el estudio de papas. ENRIQUE L. RATERA.

ELLIKER, PAUL R.: *Practical dairy bacteriology*. New York, McGraw-Hill book company Inc., 1949. ix, 391 páginas, ilus. (fots.).

En este texto están reunidos conocimientos fundamentales sobre microbiología y sus aplicaciones en la industria lechera. Constituye una buena obra de interés para técnicos, industriales y estudiantes.

En los primeros capítulos se trata en forma sencilla y resumida los caracteres morfo-fisiológicos de los microorganismos, así como también los distintos factores que inhiben o destruyen la vida de los mismos.

En los capítulos IV y VI se detallan los equipos y métodos más importantes para realizar los análisis microbiológicos de mayor interés en la leche.

El autor indica en el capítulo V los diversos tipos de alteraciones que puede sufrir una leche y los principales organismos que las provocan.

En el capítulo VII se tratan los siguientes temas: a) Origen de los microorganismos de la leche, b) Tratamiento de la leche en el tambo, c) Principales enfermedades que se transmiten por la leche y d) Pasterización de la leche.

En el capítulo VIII se indica la forma de preparar los fermentos empleados en la elaboración de queso y manteca.

En los capítulos siguientes se señala en forma mas bien somera, la preparación de los distintos productos derivados de la leche (queso, manteca, helados, etc.) y en forma detallada la acción e importancia de los microorganismos en los distintos procesos de cada elaboración.

En el último capítulo de la obra se indican los procedimientos empleados para limpiar y esterilizar los equipos y envases empleados en la industria lechera. JULIO C. VITORIA.

THOMPSON, HOMER C.: *Vegetable Crops, 4th ed.* — 1949. New York, McGraw-Hill book company. viii, 611 páginas ilustradas, (fots.).

Editada por Mc. Graw-Hill Book Company Inc., acaba de aparecer la cuarta edición de *Vegetable Crops*, de Homer C. Thompson.

En este texto, que consta de 600 páginas de nutrido material se encara en forma práctica lo concerniente a la producción, presentación y comercio de hortalizas.

El principal propósito del autor fué el de revisar y ampliar la tercera edición publicada en 1939 y lo cumple ampliamente con la valiosa información que ha agregado a su obra, tomada de los resultados de las numerosas investigaciones que se han llevado a cabo en estos diez últimos años. Así en diversos capítulos podemos observar que la anterior información se amplió en unos casos y en otros se sustituyó por la obtenida en trabajos experimentales. El autor con buen criterio, no se extiende en ellos ni recarga al lector con acopio de datos experimentales sino que, en cada caso cita las con-

clusiones a que se ha llegado en los problemas que trata y remite al interesado a la bibliografía, que ha sido actualizada y considerablemente aumentada con publicaciones aparecidas en esta última década; muchas de ellas del U. S. Dep. de Agricultura, de estaciones experimentales y de revistas técnicas.

Los grandes adelantos alcanzados en el cultivo de las principales hortalizas justifican que se haya revisado y ampliado el texto publicado hace diez años.

Esta edición está mejor ilustrada, las páginas son más nítidas que en la anterior, a la que sigue en su desarrollo y a la que agrega nueva información en valor nutritivo de las hortalizas, especialmente en vitaminas y sales minerales, nutrición del vegetal incluyendo elementos menores, uso de fertilizantes, reacción del suelo y control de malezas con productos químicos. Se actualizó además, la información referente al empleo de insecticidas y funguicidas y aparatos para su aplicación, empaque y conservación de hortalizas, como así también las estadísticas de consumo de hortalizas «per cápita».

En resumen, es un interesante tratado que familiariza al estudiante con la aplicación de los principios científicos en que se basa la explotación racional de las hortalizas y útil para el profesional que desea estar informado. PABLO C. BASCIALLI.

THORNTON, HORACE: *Textbook of meat inspection, including the inspection of rabbits, poultry and fish*. London — Bailliere, Tindall and Cox. 1949. 659 páginas ilustradas. (fots.), y 4 láminas en colores.

Es un buen libro de texto para la inspección sanitaria de las carnes de abasto. Está escrito con claridad y en forma racional y bien ilustrado.

Trata sucesivamente la inspección de los animales en pie, los mataderos, métodos de sacrificio e inspección post-mortem. A continuación se detallan en varios capítulos, como complemento de la inspección post-mortem, estudios anatómicos comparativos, nociones de patología general, principales afecciones de las distintas partes del organismo, enfermedades infecciosas y parasitarias más comunes —deteniéndose particularmente en tuberculosis— y bacteriología de la carne. Termina el estudio con las actividades en mataderos y frigoríficos describiendo el tratamiento y destino de los decomisos y subproductos y los procedimientos de conservación de las carnes.

Sendos capítulos sobre inspección de conejos y liebres, aves y huevos y pescados, completan este libro que puede ser de mucha utilidad en el trabajo diario, tanto para el profesional como para el estudiante. HUMBERTO E. CAVÁNDOLI.

GERARD, GEOFFREY: *Electricity for farmers*, London, The technical press Ltd., 1949. viii, 108 págs. ilustr. (fots.).

Proporciona una noción muy elemental sobre la generación de la corriente eléctrica, su conducción y utilización en las explotaciones agrícolas. El mayor interés se encuentra en las diversas aplicaciones, tales como iluminación, calefacción, ventilación y refrigeración en la granja. Ilustra, también, en forma muy somera y elemental el funcionamiento de máquinas modernas, como cocinas y heladeras eléctricas. T. V. BARRAÑO.

REYNOLDS, P. A.: *Farm mechanization handbook; a manual of the repair and maintenance of farm machinery*. London, Temple press Ltd., 1948. xi, 184 págs. ilus. (fots.) 9 diag. pleg.

Tiende a resolver los problemas más comunes en lo referente a trabajos de taller, reparaciones y cuidado de las máquinas agrícolas, dando al mismo tiempo, nociones elementales de algunos principios en que se funda el funcionamiento de mecanismos empleados en dichas máquinas.

Destinada, más bien, a los agricultores y gente de campo, puede, sin embargo, ser muy útil a los estudiantes de mecánica por las magníficas ilustraciones de 9 tipos de tractores modernos, cuya presentación es ponderablemente didáctica. T. V. BARAÑAO

HUTCHISON, THOMAS: *Machinery on the farm*. London, Blackie and son Ltd., 1949, viii, 198 págs. ilus. (fots.).

En siete capítulos breves se pasa revista en forma descriptiva de las máquinas agrícolas, desde motores y tractores, hasta máquinas de lechería, incluyendo en el último capítulo, el cuidado y atención de los equipos. A pesar del carácter elemental de este libro, ofrece una serie numerosa de ilustraciones, muchas de ellas fotográficas y de gran claridad, por cuyo motivo adquiere cierto interés didáctico. Incluye, también, una serie de máquinas modernas. Cabe destacar que, no obstante el carácter de la obra, se detiene el autor en una introducción histórica referente al arado, en el capítulo segundo, interesante y documentada. T. V. BARAÑAO.

BARRETT, THOMAS J.: *Harnessing the earthworm; a practical inquiry into soil-building, soil conditioning, and plant nutrition through the action of earthworms, with instructions for intensive propagation and use of domesticated earthworms in biological soil-building*. London, Faber and Faber limited. 1949. xvi, 166 págs. ilus., vii láms.

La obra de Thomas J. Barret titulada «Harnessing the Earthworm» (Poniéndole arneses a la lombriz), trata acerca de la influencia de las lombrices (*Lumbricus terrestris* y *Helodrilus foetidus*) sobre la génesis del suelo, acondicionamiento del mismo, nutrición de las plantas y uso de lombrices «domesticadas» en la formación biológica del suelo.

El término de lombrices «domesticadas» se refiere a lombrices que se han desarrollado siguiendo métodos especiales de cría selectiva y alimentación, en un ambiente controlado y creado especialmente para favorecer su propagación intensiva, en oposición a las lombrices naturales comunes en los suelos fértiles y suficientemente húmedos.

La obra está dividida en dos partes fundamentales; en la primera se estudia la lombriz en su medio ambiente en relación con sus hábitos de alimentación y funciones digestivas, haciéndose resaltar en la misma la importancia extraordinaria que tienen en la formación del «humus» del suelo. Dice el autor al respecto que las lombrices constituyen las «tropas de choque» de la naturaleza para la producción rápida de humus, mientras espera la acción de otros procesos más lentos. En el cuerpo de las lom-

brices se encuentra, una fábrica de humus completa y de alta velocidad de producción, que combinando todos los procesos, mecánicos y químicos, da un producto terminado: el suelo superficial, adecuadamente acondicionado para un perfecto desarrollo radicular y conteniendo en alta proporción soluble en agua, todos los elementos necesarios para la nutrición de las plantas.

En vista de los múltiples efectos favorables debidos a las lombrices, el autor encara la posibilidad de poner estos organismo al servicio del hombre, lo cual parece absolutamente factible, ya que en experiencias realizadas ha conseguido concentraciones equivalentes a más de 260 millones de lombrices por hectárea —arable, comparado con aproximadamente 2 millones por ha.— arable correspondiente a un buen suelo natural. Con tal motivo en la segunda parte del libro expone con todo detalle los procedimientos que ha seguido para asegurar la propagación intensiva y utilización de las lombrices bajo condiciones ambientales controladas.

Se trata de un libro escrito en lenguaje sencillo y en forma amena, de fácil lectura, que sin ser eminentemente técnico, contiene conceptos sugestivos y novedosos para todos aquellos interesados en este aspecto del mejoramiento de la productividad del suelo. M. A. L. R.

HOWES, F. N.: *Vegetable gums and resins*. Waltham, Mass., 1949. xx, 188 págs. ilus. (ant. port.): A new series of plant science books, v. xx. The Cronica Botanica Company; Buenos Aires: Acme Agency. u\$s 5.

Publicado por «The Cronica Botanica Company» acaba de aparecer un interesante volúmen de 188 páginas sobre gomas y resinas vegetales. Su autor lo ha «dedicado a los colectores de gomas y resinas de todas partes del mundo, muchos de los cuales, especialmente los del continente Africano, viven en condiciones humildes y llevan sus trabajos en arduas condiciones».

La obra esta dividida en dos partes, la primera que se refiere a gomas, consta de seis capítulos, la segunda con once capítulos trata de resinas.

Datos muy interesantes sobre las resinas medicinales se encuentran en el capítulo XVIII.

Completan la obra 39 ilustraciones, una abundante bibliografía y dos índices, uno de nombres científicos y otro de nombres vulgares y autores. E. L. R.

WIEMAN, H. L.: *An introduction to vertebrate embryology*. 2d ed. New York, McGraw-Hill book company, Inc., 1949. ix, 412 págs. ilus.

Ha aparecido la segunda edición del conocido manual de Wieman, ya clásico en los estudios preparatorios americanos. Destinado a los estudiantes del «College», en la presente edición incluye un capítulo dedicado al desarrollo de la rana, por constituir este animal, el material comúnmente empleado en las clases prácticas. Además incluye Wieman las nuevas adquisiciones de la embriología humana descubriendo los embriones más jóvenes publicados por Hertig y Koch.

El capítulo destinado a la organogénesis de los mamíferos ha sido ampliado notablemente lo mismo que el referente al crecimiento prenatal en la especie humana.

En el capítulo final se encuentra un apéndice que reúne en forma clara y concisa los conocimientos modernos acerca de la embriología experimental.

No dudamos que la presente edición ha de tener la brillante acogida de la primera, que ha sido objeto de varias reimpressiones. E. J. C.

CLAWSON, Marion.: *The Western Range Livestock Industry*, Mc Gaw-Hill Book Company, New York, pág. 1950; 401 págs.

Constituye este libro una valiosa contribución para los estudiosos que se interesan en el aspecto ganadero y económico de los Estados Unidos de Norte América.

Alrededor del motivo central, los campos de pastoreo del oeste, giran una serie de temas directamente relacionados con la industria ganadera importante a que da origen. Las diferentes especies de animales domésticos, su productividad, el medio ambiente, los establecimientos de explotación extensiva, los factores que gravitan en la demanda de los productos ganaderos, y otros tópicos más, son motivos de informaciones de rigurosa actualidad, que, en conjunto, representan un valioso aporte técnico en la materia, expresado en forma clara y con numerosas ilustraciones realizadas por una correcta impresión.

Resulta interesante consignar que a juicio del autor, el aspecto más importante de la industria ganadera de las enormes y pintorescas zonas del oeste norteamericano, no es económico sino político. Estima en un 5 % la población total de esa región, lo cual es mucho menos del 1 % de los habitantes de todo el país. A pesar de su escaso número, los productores ganaderos del oeste ejercen una poderosa influencia, decisiva a veces, sobre el Gobierno dentro de cada Estado y sobre sus representantes ante el Congreso. Bajo el sistema federal, los asuntos son decididos sobre la base de número de estados más que por el número de habitantes, lo cual es más evidente en el Senado, donde cada estado está representado por dos senadores. Allí la influencia de los ganaderos resulta particularmente importante cuando se trata de resolver problemas de relaciones exteriores, de confirmaciones y designaciones, de modo, que pequeños grupos de ganaderos pueden ejercer una acción considerable, si se considera que sus senadores representan un tercio del total. M. HELMAN.

CHAPMAN, HERMAN H. y WALTER H. MEYER: *Forest Mensuration*, Mc Graw-Hill Book Co., New York, 1949. 1ª. Edición; 1 Vol., 522 págs., 83 fig., 72 tablas.

Esta primera edición de *Forest Mensuration* viene a constituir un interesante complemento de la obra que con el mismo título publicara Chapman en 1921 y de las ediciones de 1931 y 1936 de *Elements of Forest Mensuration* por Chapman y Demeritt. Es perfectamente razonable considerarla primera edición de una nueva obra porque si bien, los principios fundamentales de la tasación de montes se mantienen, no cabe duda que los grandes adelantos producidos en los últimos años en materia de utilización de productos forestales, ejecución e interpretación de inventarios, etc. le han planteado al tasador de montes una serie de problemas completamente nuevos. Así lo han entendido los autores al actualizar unidades de medida, construir tablas de cubicación para el árbol entero, analizar las nuevas aplicaciones de estadística, gráfica y matemáticas en las mensuras, incluir un capítulo con la discusión de métodos de aerofotogrametría y estudiar los nuevos métodos que se aplican en la determinación de crecimiento de individuos y masas forestales.

La acertada ordenación de los distintos temas, la claridad de exposición y la extensa lista de material bibliográfico incluida al final de cada capítulo, hacen de esta obra, un valioso elemento de consulta para los que estudian problemas técnicos relacionados con la utilización de la materia prima forestal. LUCAS A. TORTORELLI.

PRESTON, JOHN F.: *Farm Wood Crops*. 1 Vol., 302 págs., 85 fig., Edit. Mc Graw Hill Book Co., New York, 1949.

La Serie Forestal Americana se enriquece con este aporte de John F. Preston, que viene a sumarse al grupo de las interesantes obras referentes a los distintos aspectos de la ciencia forestal que la integran. El autor vuelca en ella la experiencia recogida en largos años de trabajo en el Servicio de Conservación de los Estados Unidos.

Este volumen es una guía técnica para la implantación y ordenamiento de macizos forestales en los establecimientos agropecuarios; mostrando claramente cómo pueden beneficiar su economía con la cosecha de productos forestales. En nuestro país, con extensiones tan grandes dedicadas a la producción agrícola-ganadera es indudable que este tema ha de resultar de gran interés.

Contiene una cantidad apreciable de dibujos y fotografías intercaladas en el texto, incluye además un glosario de términos forestales de uso común y los distintos temas están tratados con un lenguaje sencillo y claro, lo que le hace de fácil lectura por todos aquellos que se interesen por los problemas del agro. L. A. TORTORELLI.

MATERA, ERNESTO ANTONIO: *Contribuição para a cirurgia abdominal do cão; estudo e tecnica das incisoes da parede ventral*. Sao Paulo (s. e., s. i.), 1948, 105 pp. (incl. láms.).

En la introducción destaca el A. la importancia del tema en cirugía canina, como resultado de la frecuencia con que se practica la laparotomía y del escaso interés prestado hasta ahora a las distintas incisiones.

Después de breve noticia histórica, pasa revista a variados juicios sobre las incisiones abdominales en el hombre. Analiza las descripciones halladas en la bibliografía veterinaria, sacando como conclusiones generales que se omiten pormenores técnicos y que la incisión mediana ha sido la única aplicada en gran escala.

En el siguiente capítulo trata la anatomía quirúrgica del abdomen; estudia la división de éste en regiones y la morfología exterior de la pared ventral. Describe minuciosamente la topografía, la irrigación y la inervación. Algunos esquemas parecen inspirados en la Anatomía topográfica de Bradley; una lámina muestra la inervación del M. recto en forma inconclusa.

Habla sucintamente sobre la fisiología quirúrgica abdominal y deduce para los distintos planos y elementos anatómicos, normas y requisitos de la diéresis y de la reconstitución postoperatoria.

A continuación, el capítulo fundamental: estudio de las principales incisiones practicadas en la pared ventral, a las cuales clasifica en longitudinales, transversas y combinadas. Nítidas ilustraciones de los distintos tiempos operatorios y amplios cuadros que sintetizan las 80 intervenciones practicadas, complementan muy eficientemente el texto.

Entre las incisiones longitudinales considera la mediana, la paramediana, la transrectal y la pararrectal. En la mediana, la simplicidad y la rapidez de ejecución, así como la escasa irrigación de la zona en que se trabaja, son ventajas compensadas sobradamente por la debilidad de la cicatriz. No obstante, en el hipogastrio es la única técnica practicable.

La incisión paramediana, muy usada hoy en el hombre, no ha sido casi empleada en los animales; el A. procura difundirla por medio de esta publicación. No tiene más

inconveniente que el mayor tiempo requerido para su realización; tanto anatómica como fisiológicamente, es la mejor incisión.

La transrectal sólo ofrece desventajas, interesa ramas arteriales y nerviosas; proporciona acceso restringido a los órganos.

La pararectal aborda más directamente los órganos algo distantes del plano sagital en el epi y el mesogastrio, pero tal ventaja es anulada por las dificultades de su técnica, porque puede herir vasos y Nn. profundos —peligro de hemorragias abundantes y de atrofiás musculares— y porque puede necesitarse incidir la piel sobre las mamas o el M. prepucial, según el sexo. Es la incisión longitudinal menos fisiológica.

La incisión transversa, uni o bilateral, puede hacerse amplia, lo que permite mayor libertad. Necesita mucho más tiempo, habilidad para evitar la retracción del M. recto, seccionado, y síntesis minuciosa. Resulta poco aconsejable por su técnica difícil y por las perturbaciones que puede provocar.

De las numerosas incisiones combinadas descriptas para el hombre, estima que sólo la de Sloan es aplicable en el perro. Proporciona mejor acceso a los órganos abdominales, exposición óptima; respeta los Mm. rectos, vasos y nervios. Las desventajas son el mayor tiempo que necesita y su ejecución dificultosa.

Termina el folleto con las conclusiones a manera de resumen, y una copiosa bibliografía.

El trabajo está encarado con criterio racional y moderno; las descripciones son claras, sin omisión de detalles, como es a veces tan frecuente. La meritoria obra honra al A. y a la ciencia veterinaria paulistana. DOMINGO CÁNTER.

ROADHOUSE, CHESTER L. and HENDERSON, JAMES L.: *The market-milk industry*. 2 Edición, New York, Mc Graw-Hill book company Inc., 1950. xviii, 716 pp. illus. (fots.).

En esta obra se realiza un vasto estudio de la producción, control, comercialización y distribución de la leche en Estados Unidos. La mayoría de estos conocimientos pueden ser aprovechados directa o indirectamente en nuestro país.

Los primeros capítulos tratan en forma resumida la composición química y los gérmenes no patógenos de la leche. En los capítulos siguientes se explica con detalle la forma de obtener leche sana y limpia, así como también cuáles son las construcciones más adecuadas para el tambo. Se estudia también el funcionamiento de las estaciones de control de leche, los equipos que contienen y los análisis que allí se realizan.

El capítulo 9 se refiere a los medios de transporte de la leche y a los gastos que ellos representan.

En el capítulo 10 se estudian los olores y sabores que puede tener la leche; los capítulos siguientes tratan en forma detallada las construcciones, equipos y el funcionamiento de las plantas de higienización y pasterización de leche, así como también la forma de lavar y esterilizar los equipos empleados en estas plantas industriales.

En los capítulos 14, 15 y 16 se describe detalladamente el funcionamiento de los equipos destinados a la pasterización y enfriamiento de la leche.

Los capítulos 17 y 18 se refieren al descremado de la leche y a la preparación de crema para el consumo directo; en el 19 se estudia la preparación de leches fermentadas y modificadas.

El capítulo 20 se refiere a la distribución de leche y el 21 estudia el costo de producción de la leche y el siguiente la diferencia de precios con la crema y la leche descremada.

El capítulo 23 trata de la inspección y control del tambo y las plantas de higienización y pasterización; en el 24 se estudia el valor nutritivo de la leche.

Finalmente el capítulo 25 habla de los laboratorios y de los análisis químicos y bacteriológicos de la leche que se realizan en los mismos. El libro termina con un capítulo de problemas sobre la standarización de leche y crema.

De la lectura de esta obra se desprende que los conocimientos que contiene pueden ser de gran utilidad para los profesionales, industriales o estudiantes dedicados al estudio o al perfeccionamiento de la industria lechera.

The «Market Milk Industry» resultará especialmente interesante para los técnicos encargados de la dirección de usinas de pasterización de leche. ENRIQUE C. VITORIA.

AHLGREN, GILBERT H.: *Forage crops*. New York, McGraw-Hill book company, Inc., 1949. x,418 p. ilus. (fots.).

Como el autor lo indica en esta interesante obra de reciente aparición, es tema principal de la misma, el estudio de todas aquellas plantas que cultivadas por el hombre son después consumidas por los animales domésticos.

Si bien se dedica, principalmente, al estudio de todo cuanto se refiere a las especies forrajeras cultivadas en los Estados Unidos y en particular a características de adaptación, rendimientos y aprovechamiento para aquel país, llega esta obra a completar una necesidad de información actualizada para la Argentina sobre temas de esta especialidad.

El texto que ha sido editado con fines docentes y que en todas sus descripciones e informaciones se mantiene dentro de un nivel accesible al alumno universitario y al productor de cultura general, abunda en información bibliográfica respecto a cada tema y se hace así de gran valor para el profesional que trabaja en esta especialidad.

Después de delinear en dos capítulos a manera de introducción la evolución que ha experimentado a través del tiempo la producción forrajera y la influencia del clima y del suelo en el éxito de cada cultivo, entra a considerar en particular a las especies y variedades forrajeras más extensamente cultivadas en Norteamérica.

Cada una de las indicaciones vinculadas con el cultivo de las plantas, suele documentarse con moderna experimentación, cuyas conclusiones transcribe el autor en cada caso. La mecanización de las operaciones de siembra, cosecha y aprovechamiento que han hecho posible la utilización en escala comercial de muchas de las especies forrajeras estudiadas, se señala e ilustra con numerosas fotografías que hacen a esta obra, práctica, accesible y útil.

Las operaciones complementarias que permiten conservar y aprovechar los forrajes durante períodos de escasez de alimento, las mezclas de especies forrajeras en la instalación de praderas temporarias o permanentes, el problema de las malezas, contribuciones debidas a la fitotecnia, la producción de semilla, las enfermedades y las plagas, y otros muchos, son los encabezamientos de los capítulos que complementan la obra.

Por todo lo señalado consideramos a esta obra «cultivos para forrajes» de gran actualidad para profesionales, estudiantes y productores ganaderos de un país como el nuestro, donde la producción ganadera gravita, tan sensiblemente, en la economía nacional. La similitud de problemas y ambientes con el país donde este libro ha sido publicado, permite aprovechar el cúmulo de información en él reunido para una mejor explotación de nuestros campos de ganadería. GINO A. TOMÉ.

UDALL, D. H.: *Práctica de la clínica veterinaria*. 2a. ed. española traducida de la 5a. inglesa y anotada por C. Ramón Danés Casabosch... Barcelona-Buenos Aires Salvat Editoras, 1950, 863 p. ilus.

Reunir en un compendio al amplio y heterogéneo material, que puede constituir materia de preocupación que concierne a la Clínica Veterinaria, no es tarea fácil.

Quienes han perseguido tales propósitos generalmente han incurrido en errores fundamentales: o bien, al hacer un material de contenido en extremo práctico, han vilipendiado la realidad científica; o bien al concretar, guiados por propósitos similares, han incurrido en el defecto de concederle un cariz en extremo científico que defiende tanto al práctico como al profesional que busca donde orientarse para luego nutrirse más copiosamente.

En su «Práctica de Clínica Veterinaria» D. H. Udall zanja hábilmente los inconvenientes mencionados; cada tema es seguido de una extensa bibliografía en la que su autor concede un marcado privilegio a los trabajos de habla inglesa, marginando un tanto nuestros textos clásicos y publicaciones.

Débase tener presente que la modalidad de crianza, propia del ganado en nuestro país, adquiere mucha similitud con lo que ocurre en la República del Norte. Del particular surgen dos conclusiones principales: la importancia de la bibliografía que figura en la obra de Udall, y el concepto que la Clínica le merece y en la forma que la aborda, para expresarse con autoridad. A todo ello arriba después del ejercicio prolongado de la Clínica Veterinaria Ambulante.

Comienza su compendio con un prolijo estudio de las enfermedades del aparato respiratorio; en una rápida visión no omite tema de importancia sin mencionar, ya sea en forma fragmentaria o resumida. En éste y en otros capítulos la sinonimia constituirá valiosa ayuda para el estudioso que desee abordar otras obras.

A continuación Udall y sus colaboradores que lo acompañan a lo largo de todo el texto, mencionan las enfermedades del aparato digestivo, con las parasitosis más frecuentes que afectan a los animales domésticos.

Luego entra a considerar los trastornos que afectan con más frecuencia los grandes sistemas u órganos, incluyendo las alteraciones del metabolismo de manera concisa y oportuna.

Mediante una ligera revista considera las enfermedades bacterianas agudas y las producidas por virus; con no menos acierto conduce las enfermedades infecciosas crónicas, provocadas por microbios, protozoarios, tripanosomiasis y metazoarios: estas descripciones extensas en cantidad y calidad, consideradas en conjunto, son seguidas de un conciso estudio de las afecciones alérgicas. Udall menciona en la obra los «envenenamientos» que pueden provocar anomalías y pérdidas de ganado, interesante manera de apreciar aspectos que, a no dudarlo, pueden influir favorablemente sobre el criterio del lector ajeno al ambiente de su actuación.

Por último en un capítulo que intitula «enfermedades diversas», agrupa las estomatitis proliferantes y ulcerosas, esofagitis y la queratitis infecciosa.

A través de todas estas disertaciones incluye los tratamientos correspondientes y las consideraciones que cada recurso terapéutico le merece. Así amalgama fórmulas clásicas que por lo general altera en algunos términos con respecto a nuestro medio, o en la dosificación, con las conquistas científicas de reciente data, cual son las sulfamidas y penicilina, reservando para ésta una importante función en el tratamiento de la neumonía de los terneros.

Cabe destacar en el capítulo que trata las «enfermedades producidas por virus», el concepto que le merece la fiebre aftosa. Una acertada reseña sobre la virulogía pone en claro en forma concisa el problema de los virus que intervienen en su etiología: y desde un plano diferente al concepto que nos merece la enfermedad, abunda en detalles que completan al diagnóstico diferencial y que en nuestro país ocupan eventualmente nuestra atención profesional. Lógica consecuencia, el afán que guía a Udall, si tenemos en cuenta en qué consiste la profilaxis y tratamiento de la fiebre aftosa en la gran república del Norte: el sacrificio de los animales afectados y de los que se hallan en contacto con ellos. De ahí la importancia trascendental que insume el diagnóstico determinado a los efectos de no incurrir en errores de apreciación que lesionen los intereses económicos vastamente considerados.

En definitiva, la obra es de positivo interés, y constituye una «puesta al día» acertada de aplicación, métodos terapéuticos y conceptos clínicos modernos, que deben regir las enseñanzas de Clínica Veterinaria Ambulante. R. VIERA.

FRIEDMANN, GIOVANNI: *Fertirrigazione; nuovo metodo che consente di aumentare, e spesso triplicare e quintuplicare, la produzione agraria*. Roma. Ramo editoriale degli agricoltori, 1948. 408 Págs., Ilus. (*Trattati di agricoltura*, V. 6). (El comentario bibliográfico de esta obra se publicó en tomo XII, Entrega I, noviembre 1948 de la Revista de la Facultad, y por error se mencionaba «Edit. Roma», en lugar de la que figura en esta cita).

## INDICE DEL TOMO XII

---

BOSSI, VIRGINIO: Breve contributo alla conoscenza dell'oftalmia periodica...	8
DA GRAÑA, ANÍBAL: Tratamiento de las formas no complicadas de demodexia del perro, por el jabón cálcico de aceite de chaulmoogra, por vía oral.....	159
DEL CONTE, ESTANISLAO y COMPTE, EMILIO J.: Histofisiología de la tiroides del pollo durante sus primeros días de vida .....	166
DELLEPIANE GALLI, AUGUSTO D.: Método fotográfico de calificación de lanas semilludas .....	114
DÍAZ, JORGE R.: Desarrollo del tubo polínico en pistilos de manzanos, en flores autopolinizadas y en polinizaciones cruzadas recíprocas de las variedades Delicious y King David .....	316
DÍAZ, JORGE R.: Postmaduración de semillas y cultivo de embriones de duraznero	80
MARCHIONATTO, JUAN B.: El «Tizón» o Podredumbre del tallo» del conejito	3
MONTEVERDE, JOSÉ JULIO y SIMEONE, DOMINGO HÉCTOR: Embriones de pollo sobrevivientes a la inculación de una cepa de virus de la encefalomiélitis equina .....	68
MONTEVERDE, JOSÉ JULIO: Presencia de <i>Shigella equuli</i> y de bacterias del «grupo Paracoli» en la médula ósea de un feto de equino abortado .....	259
MORALES, CARLOS C. y DAMONTE, FABIO R.: La reacción de Friedmann en equinos	221
MORINI, EMILIO G.: Parásitos del género «Raillietina» en el Gallus gallus de la República Argentina .....	286
PALLERONI, NORBERTO J.: Experiencias sobre cruzamientos de levaduras .....	300
RATERA, ENRIQUE L.: Ensayos realizados con semillas de papa ( <i>Solanum tuberosum</i> L.) .....	37
RATERA, ENRIQUE L.: Observaciones sobre la floración de variedades cultivadas de papas ( <i>Solanum tuberosum</i> L.) y de especies silvestres argentinas .....	253
ROVEDA, RODOLFO J.: <i>Pentastoma gracile</i> , Diesing 1835 .....	47
ROVEDA, RODOLFO J.: Segunda contribución al estudio de la bionomía del <i>Argas persicus</i> .....	201
SAURA, FULGENCIO: Cariología de gramíneas en Argentina .....	51
SOPEÑA, ISAÍAS: El método de las soluciones del sulfato de cobre para la determinación de algunos componentes de la sangre .....	210
SOPEÑA, ISAÍAS y GURY DOHMEN, ENRIQUE F.: Un monstruo ovino acéfalo..	32
SORIANO, SANTOS: Investigaciones sobre las bacterias anaerobias activas en el enriamiento industrial del lino .....	174
SORIANO, SANTOS y TRUCCO, R. E.: Utilización del afrecho enmohecido en la fermentación alcohólica del maíz .....	26
SECCIÓN BIBLIOGRÁFICA .....	149 y 338



TOMO XII

---

Entrega I, páginas 3 a 157 .....	Diciembre de 1948
Entrega II y III, páginas 159 a 368 .....	Diciembre de 1949

