

# DATOS PARA EL CONOCIMIENTO DE LA QUIMOTAXIS DE LOS INFUSORIOS

por

E. FERNÁNDEZ GALIANO

Todos los que han estudiado la fisiología de las células libres saben perfectamente que éstas responden a las modificaciones energéticas del medio por manifestaciones de índole química o cinética. Unas veces estas variaciones dependen de la introducción en el medio en que las células viven de un agente mecánico, otras de un agente térmico, o bien de un agente luminoso o eléctrico, y finalmente, en ocasiones, es la intervención de una substancia química la que provoca tales mudanzas.

En el presente trabajo se trata de contribuir al esclarecimiento de las relaciones de los infusorios (considerados como células libres) con los componentes químicos del medio en que ordinariamente se desarrollan tales seres. He tomado como ejemplo los infusorios del género *Paramecium* por dos razones: 1.<sup>a</sup>, por su gran tamaño, que permite apreciar las reacciones con suma comodidad; 2.<sup>a</sup>, por la facilidad con que pueden conseguirse dichos animales, pues basta echar un puñado de heno en un bocal con agua para que, al cabo de un lapso de tiempo variable entre dos o tres semanas, se obtenga casi siem-

pre un inmenso número de individuos que viven perfectamente en aquella infusión.

La acción de los agentes químicos sobre los infusorios ha sido muy estudiada: numerosos fisiólogos han seguido las huellas de Verworn, quien con sus investigaciones sobre la fisiología de los Protozoos abrió un amplio camino a este género de trabajos. Pero si esto es cierto, no lo es menos que el estudio de las relaciones existentes entre los infusorios y el medio en que naturalmente viven y se desarrollan ha sido muy descuidado, pues únicamente el fisiólogo norteamericano Jennings en una de sus publicaciones (1) alude a la acción sobre los infusorios del género *Paramecium* de su propio líquido de cultivo, es decir, la infusión de heno que más arriba hemos mencionado. A la misma infusión nos referiremos siempre que en lo sucesivo hablemos del líquido de cultivo de los *Paramecium*.

Dice el citado sabio que los *Paramecium* reaccionan en el sentido de producir una taxis negativa cuando, estando ellos en una gota de agua destilada, se hace llegar a su contacto otra gota de infusión de heno, es decir, que los infusorios rehuyen el contacto de la infusión y se acumulan en la parte de la preparación a donde no ha llegado aquel líquido.

En las líneas que siguen tratamos de demostrar dos cosas:

1.<sup>a</sup> Que en el líquido de cultivo de los *Paramecium* existen simultáneamente dos elementos que ejercen acciones contrapuestas sobre los infusorios y que se traducen por movimientos de todo el cuerpo, o sea, por movimientos de traslación: uno al que, en gracia a la concisión,

---

(1) H. S. JENNINGS: Studies on reactions to stimuli in unicellular organisms. I. Reactions to chemical, osmotic and mechanical stimuli in the ciliate infusoria. (*The Journal of Physiology*, XXI, 1897)

designaremos elemento repulsivo y que produce sobre los protozoos una taxis o tactismo negativo (los protozoos huyen *aparentemente* (1) de este elemento estimulante) y otro, que llamaremos elemento atractivo, en el seno del cual se acumulan los infusorios, abandonando el resto del líquido desprovisto de tal elemento o en el que existe en menor cantidad; resulta, pues, que, según nuestro punto de vista, cuando los *Paramaecium*, como Jennings dice, reaccionan negativamente en presencia del líquido de cultivo, no lo hacen en realidad con respecto a todo él, sino solamente con respecto a una de sus partes integrantes, el elemento repulsivo.

2.<sup>a</sup> Que los resultados que se obtienen al estudiar la acción de los cuerpos químicos sobre los infusorios varían notablemente según se emplee el procedimiento clásico o el modificado por nosotros al hacer las experiencias que después describiremos. Vamos a examinar más de cerca esta segunda cuestión.

El procedimiento clásico consiste en depositar sobre un portaobjetos, unas cuantas gotas del líquido que contiene los *Paramaecium* y después cubrir aquél con una laminilla que descansa sobre dos finas varillas de vidrio, puestas a tal distancia una de otra que permitan la estabilidad del cubre-objetos; a continuación con una pipeta capilar se introduce entre porta y cubre en el seno del primer líquido otro que contiene el agente químico cuya influencia sobre los infusorios se quiere estudiar, y en seguida

---

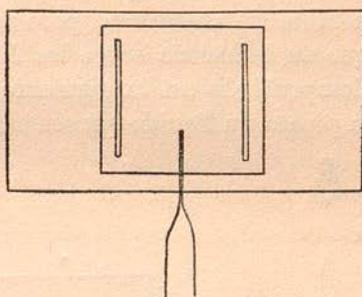
(1) Empleamos este vocablo como advertencia de que, en realidad, los infusorios no huyen ni buscan el contacto de agentes estimulantes, sino que realizan movimientos en virtud de influencias no bien estudiadas y que, en nuestro caso, pudieran ser dependientes de la naturaleza química de las substancias empleadas. La palabra *Fluchtreaktion*, usada en libros alemanes de fisiología, designa gráficamente el fenómeno y será empleada por nosotros en lo sucesivo.

se retira la pipeta, de modo que la gota de líquido por ella introducida queda aislada en el centro de la preparación y rodeada por el líquido portador de los *Paramaecium* (fig. 1.<sup>a</sup> y 2.<sup>a</sup>).

La modificación por nosotros introducida consiste sencillamente en que, en lugar de retirar la pipeta inmediatamente después de depositada en la preparación una gota del líquido que encierra, se deja la abertura de la pipeta en contacto con el líquido portador de los infusorios durante el tiempo que dure la experiencia, de tal modo que el líquido que contiene fluye constantemente sobre el del preparado.

El introducir esta sencillísima modificación implica una gran ventaja, pues, si, después de introducida la gota se retira la pipeta y aquélla queda aislada, bien pronto se mezcla en virtud de la difusión con el líquido que la rodea y, por tanto, las reacciones que den los infusorios no serán con

respecto al líquido puro de la pipeta, sino con respecto a una mezcla de éste con el de la preparación. Si, por el contrario, no se retira la pipeta, el líquido de ella ingresa constantemente en la preparación, y así hay más garantías de que la taxis de los *Paramaecium* se verifique con respecto al líquido puro que tratamos de ensayar. Más tarde tendremos ocasión de mostrar la diferencia en

Fig. 1.<sup>a</sup>Fig. 2.<sup>a</sup>

Esta figura representa la instalación de la figura 1.<sup>a</sup> vista de perfil.

los resultados obtenidos según se emplee uno u otro procedimiento.

Vamos a adelantarnos a una objeción de que al parecer es susceptible este método de operar. Pudiera creerse que, como resultado de dejar fluir el líquido de la pipeta, los fenómenos de tactismo fueran debidos en todo o en parte a la acción mecánica de la corriente: hay, en efecto, una corriente de líquido que va de la pipeta a la preparación y es sabido que las corrientes suelen producir en las células libres reacciones que se conocen colectivamente con el nombre de «reotaxis», pero aquí la corriente es tan débil que su influencia sobre los *Paramaccium* es despreciable. Compruébalo así la siguiente experiencia: si se pone en la pipeta un líquido que sea indiferente respecto a los *Para-*

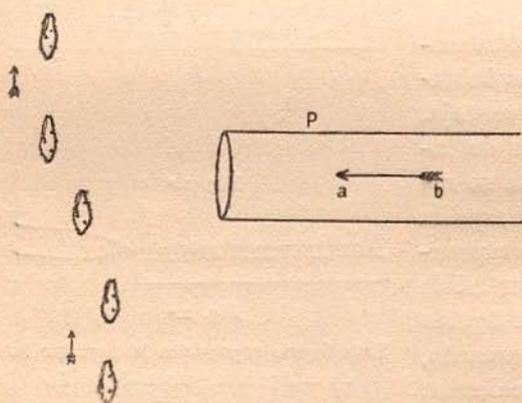


Fig. 3.<sup>a</sup>

La flecha *a b* indica la dirección de la corriente de líquido que sale de la pipeta *P*.

maeccium, es decir, que no provoque en ellos quimotaxis positiva ni negativa, se ve que la corriente sólo ejerce influencia sobre los infusorios que caminan más o menos perpendicularmente a la dirección de aquélla y que además, pasan muy cerca de la abertura de la pipeta. Este influjo consiste en que tales individuos son desviados un poco de su trayecto (fig. 3.<sup>a</sup>), o sea, un efecto semejante al que produce la corriente fuerte de un

pendicularmente a la dirección de aquélla y que además, pasan muy cerca de la abertura de la pipeta. Este influjo consiste en que tales individuos son desviados un poco de su trayecto (fig. 3.<sup>a</sup>), o sea, un efecto semejante al que produce la corriente fuerte de un

río en la marcha de un nadador que lo atraviesa de una a otra orilla.

Además de éste, hay todavía otros hechos que demuestran la escasísima o nula influencia de la corriente sobre la producción de los fenómenos que describiremos. En primer lugar, si el líquido de la pipeta provoca sobre los infusorios una taxis negativa, p. ej., y al cabo de algún tiempo se retira la pipeta para que la corriente cese, se observa que la Fluchtreaktion se sigue verificando exactamente de la misma manera, por lo menos durante algunos minutos; no puede, pues, achacarse al influjo de la corriente cuando la pipeta estaba todavía entre porta y cubre. En segundo lugar, si los movimientos de los infusorios fueran provocados por la citada corriente, solamente darían la Fluchtreaktion los individuos que más próximos estuvieran a ella, es decir, aquellos cuya dirección se cruzara con la línea

*a b* (fig. 4.<sup>a</sup>) que indica la dirección de la corriente; esto no es lo que aquí ocurre, pues la Fluchtreaktion se verifica también en puntos tales como *p*, *p'*, *p''*, *p'''*, y, en general, en todos los puntos de un círculo cuyo centro aproximado es la abertura de la pipeta; es evidente que la influencia de la corriente no puede hacerse sentir sobre muchos de estos puntos.

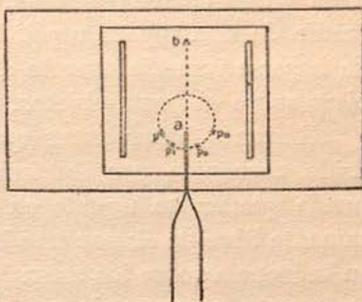


Fig. 4.<sup>a</sup>

Los *Paramaccium* exhalan, como todos los organismos, anhídrido carbónico al respirar, y está fuera de duda, según las investigaciones de Jennings, que dicho gas en solución acuosa provoca una reacción positiva en aque-

llos animales. Y como la sensibilidad de estos organismos para el ácido carbónico es tan grande que basta una cantidad minúscula de tal substancia para determinar una quimotaxis positiva, se sigue de aquí que es necesario eliminar lo más completamente posible aquella substancia de las preparaciones de *Paramecium*, pues si esto no se hace, las reacciones de los infusorios para los estimulantes químicos ensayados no serán puras, sino interferencias de las acciones respectivas del agente químico empleado y del ácido carbónico. En todos los experimentos realizados hemos cuidado, por eso, de desalojar el gas carbónico de las preparaciones, poniendo en práctica el procedimiento que Jennings preconiza en su obra *Das Verhalten der niederen Organismen unter natürlichen und experimentellen Bedingungen* (trad. alemana) y que consiste en llevar algunas gotas del líquido en que los infusorios viven a un vidrio de reloj e introducir allí aire atmosférico por medio de una pipeta repetidas veces; esta operación ha de hacerse inmediatamente antes de colocar los *Paramecium* sobre el porta-objetos.

Réstanos hacer notar que, como la emisión de anhídrido carbónico por los infusorios es incesante, nunca puede quedar un líquido en donde ellos habiten absolutamente libre de él; por esto hay que tener muy en cuenta su influencia sobre los animales, e investigar en cada caso qué parte corresponde en cada reacción al influjo del citado gas.

En los experimentos que son descritos a continuación, hemos empleado constantemente agua destilada y desechado la corriente porque ésta contiene siempre más o menos substancias alcalinas que, como es sabido, ejercen sobre los *Paramecium* una patente acción repulsiva.

Y por fin, hay que advertir que al ejecutar experiencias sobre taxis de *Paramecium*, hemos de procurar emplear

el líquido de cultivo en que vivan estos animales solos, sin otros infusorios, o que, por lo menos, sea muy exigua la cantidad de individuos del género *Colpidium* y otros protozoos que suelen acompañar a aquéllos en las infusiones.

Pongamos en la preparación cultivo puro de *Paramecium* y en la pipeta agua destilada. Llevando la pipeta con el agua destilada entre porta y cubre se observa pri-

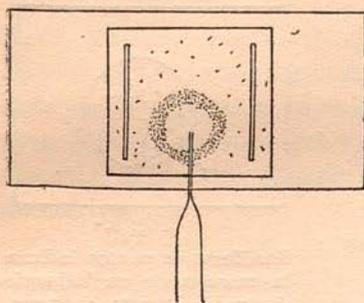


Fig. 5.ª

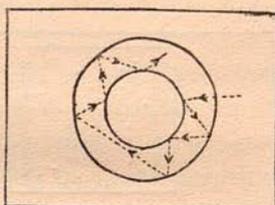


Fig. 6.ª

Los dos círculos concéntricos representan los límites del anillo, y las líneas de puntos el trayecto de un infusorio dentro de aquél.

mero, que los infusorios se retiran al contacto de aquélla; los infusorios que se acercan a la gota retroceden bruscamente y siguen después otro camino, en una palabra, dan la Fluchtreaktion; un poco más tarde, la Fluchtreaktion, que al principio sólo se verificaba para el agua de la pipeta, se ejerce también para el líquido del preparado, de modo que los infusorios acaban por formar un anillo cuyo centro es la abertura de la pipeta y del cual no pueden salir, pues dan la Fluchtreaktion, tanto cuando nadan en dirección a la boca de la pipeta como cuando lo hacen hacia los bordes de la preparación, (figs. 5.ª y 6.ª). Pasado algún tiempo se deshace el anillo, los infusorios se

extienden por todo el preparado y los alrededores de la abertura de la pipeta quedan libres de *Paramecium*, pues todos los individuos que se acercan a ella sufren la Fluchtreaktion.

Si los *Paramecium* fueran tácticamente negativos para el líquido de cultivo no se formaría anillo ninguno, pues éste se forma solamente cuando en el líquido que obra sobre los infusorios coexisten un elemento atractivo y un repulsivo (por ejemplo, en la mezcla de solución de

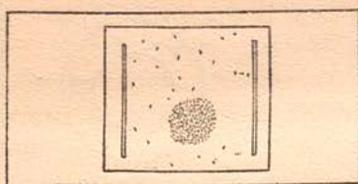


Fig. 7.ª

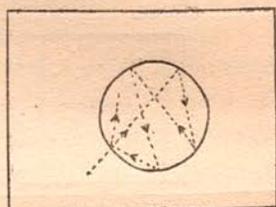


Fig. 8.ª

Las líneas de puntos indican la marcha de un infusorio dentro de la gota de agua.

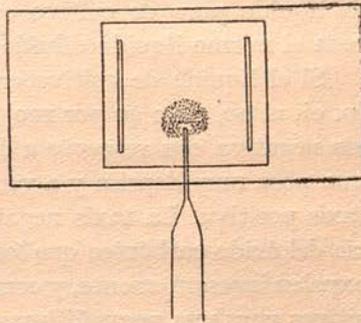
sal común y un ácido débil), o bien, si el líquido llevado con la pipeta es un ácido fuerte que al mezclarse con agua determina un grado óptimo de acidez. Evidentemente, no se verifica aquí este segundo caso. Hay, pues, que admitir que en el líquido de cultivo existe un elemento atractivo y otro repulsivo.

La destrucción del anillo y la conversión de la taxis en francamente negativa obedece a que los *Paramecium* producen incesantemente ácido carbónico que se extiende por la preparación, y la acción atractiva de este cuerpo se suma a la del elemento atractivo del líquido de cultivo, contrarrestando ambos la influencia negativa del elemento repulsivo. El desarrollo del fenómeno en esta forma proviene de que la pipeta aporta constantemente

nuevas cantidades de agua al preparado; prueba de esto es que, si en lugar de dejar la pipeta entre porta y cubre, se retira inmediatamente después de soltar una gota de su contenido, se forma primero un anillo como el que acabamos de describir, cuyo espacio interior se hace cada vez más pequeño, hasta que la reacción se convierte en tácticamente positiva, es decir, que los infusorios nadan dentro de la gota y dan la Fluchtreaktion cuando intentan separarse de ella (figs. 7.<sup>a</sup> y 8.<sup>a</sup>).

La circunstancia de que en este caso el anillo dure algún tiempo, demuestra que su existencia, en el caso anterior, no era consecuencia de la corriente de agua que fluía de la pipeta, y la subsiguiente acumulación en la gota de agua significa que los *Paramecium* no se congregan en el agua pura, sino en una mezcla de agua e infusión de cultivo.

En ocasiones, con algunos líquidos de cultivo, llegan los infusorios casi hasta la abertura de la pipeta, pero allí dan la Fluchtreaktion; o, lo que es lo mismo, que también en este caso se forma un anillo, aunque de mucho mayor espesor (fig. 9.<sup>a</sup>), pero las inmediaciones de la abertura de la pipeta quedan libres y la Fluchtreaktion aparece cada vez más clara respecto al agua destilada.

Fig. 9.<sup>a</sup>

Para explicarnos la formación del anillo debemos suponer que el elemento atractivo del líquido de cultivo se difunde más rápidamente que el negativo, y así resulta que en el límite de ambos líquidos (el de la preparación y el de la pipeta) se forma una zona que contiene mucho

elemento atractivo y poco repulsivo, a la cual acuden los *Paramaecium*.

Pongamos ahora sobre el porta-objetos los *Paramaecium* en una mezcla de 20 partes de líquido de cultivo y 80 partes de agua, y en la pipeta agua destilada.

Se observan los mismos fenómenos que en el caso anterior, con la diferencia de que, a causa de la escasa alcalinidad del líquido de la preparación, el anillo es menos espeso, hasta el punto de que, si se trata de líquidos de cultivo muy débilmente alcalinos, se produce casi una taxis negativa para el agua destilada.

También en el caso de retirar la pipeta después de introducida la gota de agua, la aglomeración en ésta (taxis positiva) es, en general, poco densa.

Entre porta y cubre depositamos unas cuantas gotas de líquido puro de cultivo con *Paramaecium* y en la pipeta el mismo líquido diluido, filtrado y aireado.

Si el líquido de cultivo en la pipeta está muy diluido (p. ej. al 20, 30 o 40 por 100) se observa, primero, una taxis negativa con respecto a él, después una fase de anillo que pasa muy deprisa y a veces inadvertida y por fin una taxis positiva. La taxis negativa sobreviene a consecuencia del ácido carbónico que los infusorios de la preparación expelen incesantemente, y como éstos son tácticamente positivos para una pequeñísima cantidad de aquel gas, resultan negativos para el líquido de la pipeta que no lo contiene; (si no se ha removido previamente el líquido de la preparación de la manera que antes hemos descrito para eliminar el ácido carbónico, la Fluchtreaktion es todavía más intensa); después se verifica entre ambos líquidos una difusión de las sustancias disueltas y, como el elemento atractivo se difunde más rápidamente que el repulsivo, se

forma en la frontera de ambas gotas un anillo, pues allí la cantidad del elemento atractivo es mayor que la del repulsivo. Y como, finalmente, nuevas cantidades de elemento atractivo vienen, que se suman con las ya existentes en el anillo, acaba éste por llenar la gota entera. En muchos casos esta difusión del elemento atractivo sobre toda la gota se verifica tan rápidamente que la fase de anillo pasa inadvertida.

Si el líquido del cultivo es poco diluído (p. ej., al 70, 80 ó 90 por 100) ocurre lo mismo, pero la fase negativa pasa muy deprisa, pues la difusión del elemento atractivo es muy rápida y la acción del ácido carbónico queda prontamente neutralizada.

En la preparación ponemos, como antes, el cultivo puro con los *Paramaecium* y en la pipeta el mismo líquido filtrado y aireado.

Para hacer este experimento tomamos una cierta cantidad de infusión de heno con muchos *Paramaecium*. Después filtramos una parte de este líquido y ambos, el filtrado y el no filtrado, son despojados del ácido carbónico del modo descrito; tenemos así dos líquidos absolutamente iguales con la única diferencia de que el uno contiene infusorios y el otro no.

Los infusorios dan una taxis negativa para el líquido de la pipeta. Como quiera que éste y el de la preparación son completamente iguales, tenemos que aceptar que la taxis es debida al gas carbónico que los infusorios expelen constantemente. Podemos presentar dos hechos que prueban esta hipótesis: 1.º, si el líquido de la preparación no es previamente privado de ácido carbónico, entonces se aumenta la cantidad de este gas con el que los infusorios siguen produciendo hasta el momento en que se introduce la pipeta entre porta y cubre, y como resultado

de ello la taxis negativa resulta más enérgica; 2.º, si se ha eliminado el ácido carbónico del preparado pero no del líquido de la pipeta, la pequeña cantidad de aquel compuesto que queda en él basta para que se produzca una taxis positiva alrededor de la abertura de la pipeta; en algunos casos no hay taxis positiva ni negativa, sino indiferencia, verosímelmente debida a la circunstancia de que la cantidad de ácido carbónico que los infusorios expelen durante su permanencia entre porta y cubre es igual a la que el líquido de la pipeta contiene.

En este experimento se debe procurar que la pipeta esté bien seca, pues en caso contrario, el líquido que de ella sale no es puro sino diluído, y por tanto provocará una taxis positiva, conforme hemos visto en el experimento anterior.

Depositemos entre porta y cubre cultivo diluído y lo mismo en la pipeta, pero filtrado.

Si disponemos el experimento de manera que ambos líquidos posean la misma concentración (al 20 por 100, por ejemplo) obtendremos la misma reacción, y exactamente por las mismas causas, que la que queda descrita en el experimento anterior.

En el caso de que ambos líquidos tengan distinta concentración, sobreviene primero una taxis negativa para el líquido de la pipeta que, como en el caso precedente, depende del gas carbónico producido por los infusorios; paulatinamente sin embargo, se difunden los flúidos en contacto y, como el elemento atractivo lo hace más velozmente que el repulsivo, fórmase en la frontera de las dos gotas una aglomeración que llega a invadir la gota entera, a causa de las nuevas cantidades líquidas que salen de la pipeta.

Es claro que si en el líquido de cultivo sólo hubiera álcalis (elemento repulsivo), y por consiguiente los infusorios experimentarían una taxis negativa para tal líquido, en el experimento que acabamos de reseñar la taxis sería negativa siempre que el líquido de la pipeta fuera más concentrado que el de la preparación (p. ej. al 60 por 100 y 20 por 100 respectivamente), pues en este caso el líquido de la pipeta, por el hecho de estar menos diluído, encerraría una cantidad mayor de álcali; y, al contrario, se verificaría una taxis positiva para el líquido de la pipeta siempre que éste fuera más diluído que el otro; sin embargo, vemos que las cosas no suceden así, pues siempre se verifica una taxis positiva.

Diluyamos ahora el líquido de cultivo para la preparación y pongámosle puro y filtrado en la pipeta.

Se observarán los mismos fenómenos que en el caso anterior, con la sola diferencia de que la fase de anillo es más larga, pues la diversidad de condiciones físicas entre ambos líquidos es muy grande (hemos empleado soluciones diluídas al 20, 33 y 40 por 100) y la difusión del elemento atractivo por toda la gota es más lenta.

Llevemos a la preparación el líquido de cultivo de los *Paramecium* diluído con agua destilada al 20 por 100 y adicionando un poco de bicarbonato sódico. Pongamos en la pipeta agua destilada, alcalinizada igualmente con bicarbonato sódico.

En un primer ensayo se alcaliniza el líquido de la preparación en la proporción de 1'5 cm.<sup>3</sup> de solución acuosa de bicarbonato al 5 por 100 por 25 cm.<sup>3</sup> de líquido de cultivo, mientras que en la pipeta mezclamos 0'75 cm.<sup>3</sup> de solución acuosa de bicarbonato sódico al 5 por 100 con 25 cm.<sup>3</sup> de agua destilada. Resulta así que el líquido de

la pipeta tiene la mitad de alcalinidad que el de la preparación.

Si en el líquido de cultivo hubiera solamente elemento repulsivo (álcali, por ejemplo), buscarían los *Para-*

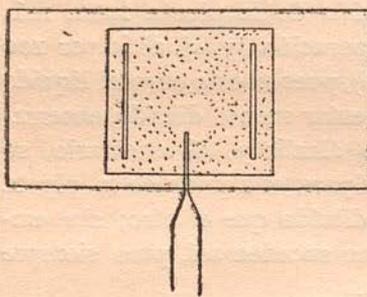


Fig. 10

*maecium* aquel de los dos líquidos en contacto que fuera menos alcalino, y, por lo tanto, se produciría una taxis positiva para el líquido de la pipeta; sin embargo, no suceden las cosas así, sino que, por el contrario, se produce una taxis negativa (fig. 10). La taxis negativa es cada vez menos

enérgica a medida que disminuimos la cantidad de álcali en la pipeta; p. ej., si la cantidad de álcali en la pipeta es de  $0'37 \text{ cm.}^3$  de la mencionada solución de bicarbonato, es decir, la cuarta parte del grado de alcalinidad del líquido de la preparación, se forma un anillo cerrado en el que los infusorios llegan hasta la abertura de la pipeta, pero allí se ve cómo dan la Fluchtreaktion (fig. 9.<sup>a</sup>).

Hagamos ahora otro ensayo en el que doblemos la cantidad de álcali del preparado ( $3 \text{ cm.}^3$  de solución acuosa al 5 por 100 por  $25 \text{ cm.}^3$  de líquido de cultivo): doblemos igualmente la cantidad de bicarbonato de la pipeta ( $1,5 \text{ cm.}^3$  de la misma solución por  $25 \text{ cm.}^3$  de agua destilada), y obtendremos exactamente los mismos resultados que acabamos de describir; si el líquido de la pipeta contiene  $0'75 \text{ cm.}^3$  de solución alcalina por  $25 \text{ cm.}^3$  de agua destilada ( $\frac{1}{4}$  de la alcalinidad de la solución del preparado), obtendremos, como antes, en caso análogo, un anillo cerrado en el que los *Paramaecium* llegan hasta la boca de la pipeta y allí dan la Fluchtreaktion. Si ponemos en la

pipeta agua destilada, los infusorios forman un anillo que se deshace en seguida, acumulándose aquéllos alrededor de la abertura de la pipeta, pero dando, sin embargo, la Fluchtreaktion los individuos que más se aproximan a ella.

Si en lugar de bicarbonato sódico utilizamos otras sustancias alcalinas (potasa, carbonato sódico, etc.) los resultados obtenidos son enteramente comparables. De estos hechos se deduce, y así lo demuestra también la experiencia, que si el líquido de la pipeta es más fuertemente alcalino o tiene igual alcalinidad que la solución puesta sobre el porta-objetos, los *Paramecium* darán la Fluchtreaktion en contacto con él, es decir, que se originará una taxis negativa.

Si empleamos soluciones de cultivo diluídas al 33, 40 por 100, etc., en lugar de estarlo al 20 por 100, los resultados que se obtienen son los mismos.

Vemos, pues, que cuanto mayor es la cantidad de álcali en la preparación, menos claro es el anillo que forman los infusorios en contacto con agua destilada y llega a desaparecer si aquella alcalinidad es muy grande, asemejándose el fenómeno a una taxis positiva, pero quedando como huella de la existencia del anillo la Fluchtreaktion que sufren los individuos que llegan casi a tocar la abertura de la pipeta.

Se podría pensar que el elemento atractivo del líquido de cultivo de que hemos hablado fuera el ácido carbónico, cuyo influjo sobre los infusorios contrarrestara el del elemento repulsivo, pero el experimento que acabamos de describir, nos prueba que no es éste el caso; no es verosímil, en efecto, que la exigua cantidad de ácido carbónico producida por los *Paramecium* en un par de minutos (tiempo máximo transcurrido entre la confección del preparado y la introducción de la pipeta) pueda anular la

influencia de la substancia alcalina de la preparaci3n que, segun hemos visto, est1 en cantidad hasta cuatro veces m1s grande que en la pipeta.

En esta 1ltima experiencia depositamos sobre el porta-objetos l1quido con *Paramaecium*, diluido con agua al 20 por 100 y alcalinizado con bicarbonato s3dico, y llenemos la pipeta de soluci3n de cultivo, tambi3n alcalinizada con aquella sal y tambi3n diluida con agua destilada.

En un primer ensayo las respectivas proporciones en que el 1lcali se encuentra en la preparaci3n y en la pipeta son: 1'5 cm.<sup>3</sup> de soluci3n acuosa al 5 por 100 por 25 cm.<sup>3</sup> de l1quido de cultivo diluido, y 0'75 cm.<sup>3</sup> de la misma soluci3n por 25 cm.<sup>3</sup> del mismo cultivo diluido. El resultado que se obtiene consiste en una taxis positiva para la soluci3n de la pipeta, lo que era de esperar, puesto que ambos l1quidos (el de la preparaci3n y el de la pipeta) tienen la misma composici3n y s3lo difieren por su grado de alcalinidad: naturalmente, los infusorios se congregan en el l1quido menos alcalino.

Lo mismo sucede si en la pipeta s3lo hay 0'37 cm.<sup>3</sup> de soluci3n alcalina por 25 cm.<sup>3</sup> de l1quido de cultivo diluido mientras en la preparaci3n se conserva la misma alcalinidad que en el caso anterior, y en general, puede decirse que siempre que el l1quido de la preparaci3n y el de la pipeta difieren por su grado de alcalinidad, los *Paramaecium* se acumulan en el menos alcalino de los dos; prueba esto tambi3n el hecho de que si, por el contrario, es el l1quido de la preparaci3n el menos alcalino, la taxis es negativa con respecto al de la pipeta.

Los mismos resultados hemos obtenido en ulteriores ensayos, tanto variando cuantitativamente la diluci3n del cultivo, como substituyendo el bicarbonato s3dico por

el carbonato del mismo metal, o el potásico, o la potasa, etc.

Este experimento contribuye a demostrar que no es el ácido carbónico producido por los infusorios de la preparación el único elemento atractivo del líquido de cultivo, es decir, el elemento que en los casos anteriores provocaba una taxis negativa para el líquido de la pipeta, pues si en el precedente experimento fuera tal ácido el que anulara la acción de la substancia alcalina del líquido del preparado, lo mismo ocurriría aquí, puesto que la solución de la pipeta no contiene ácido carbónico; vemos, sin embargo, que no ocurre esto sino todo lo contrario.

*Instituto de Fisiología de la Universidad de Bonn.*