

MICROBIOLOGÍA



SEGUNDA EDICIÓN

Roger Y. Stanier
John L. Ingraham
Mark L. Wheelis
Page R. Painter

EDITORIAL REVERTÉ

MICROBIOLOGÍA

SEGUNDA EDICIÓN

Roger Y. Stanier

John L. Ingraham
*University of California
Davis, California*

Mark L. Wheelis
*University of California
Davis, California*

Page R. Painter
*University of California
Davis, California*

Dirección de la versión española:
Prof. Julio R. Villanueva

Coordinación general de la obra:
Prof. Ricardo Guerrero

Traducción de:
Prof. Mariano Gacto
Universidad de Murcia

Dra. Isabel García Acha
Universidad de Salamanca

Prof. Ricardo Guerrero
Universidad Central de Barcelona

Prof. Julio R. Villanueva
Universidad de Salamanca



EDITORIAL
REVERTÉ

Barcelona · Bogotá · Buenos Aires · México

Título de la obra original:

THE MICROBIAL WORLD
Fifth Edition

Edición original en lengua inglesa publicada por:

Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, New Jersey. U.S.A
Copyright © by Prentice-Hall, A División of Simon & Schuster, Englewood Cliffs,
New Jersey 07632 - U.S.A

Edición en papel:

© Editorial Reverté, S. A., 1992
ISBN: 978-84-291-1868-1

Edición en e-book (PDF):

© Editorial Reverté, S. A., 2024
ISBN: 978-84-291-9808-9

Versión española por:

Prof. Julio R. Villanueva
Universidad de Salamanca

Prof. Ricardo Guerrero
Universidad Central de Barcelona

Prof. Mariano Gacto
Universidad de Murcia

Dra. Isabel García Acha
Universidad de Salamanca

Propiedad de:

EDITORIAL REVERTÉ, S. A.
Loreto, 13-15, Local B
08029 Barcelona
Tel: (34) 93 419 33 36
reverte@reverte.com
www.reverte.com

Reservados todos los derechos. La reproducción total o parcial de esta obra, por cualquier medio o procedimiento, comprendidos la reprografía y el tratamiento informático, queda rigurosamente prohibida, salvo excepción prevista en la ley. Asimismo queda prohibida la distribución de ejemplares mediante alquiler o préstamo públicos, la comunicación pública y la transformación de cualquier parte de esta publicación (incluido el diseño de la cubierta) sin la previa autorización de los titulares de la propiedad intelectual y de la Editorial. La infracción de los derechos mencionados puede ser constitutiva de delito contra la propiedad intelectual (Art. 270 y siguientes del Código Penal). El Centro Español de Derechos Reprográficos (CEDRO) vela por el respeto a los citados derechos.

Prólogo

En 1957, Roger Y. Stanier, Michael Doudoroff y Edward A. Adelberg publicaron la primera edición de su libro de microbiología (*The Microbial World*) con «el sincero propósito —según dijeron posteriormente— de acelerar el cambio hacia la unificación de la microbiología con el resto de las ciencias biológicas, presentando aquélla en el marco de los hechos y conceptos de la biología general». Treinta años más tarde, esta obra llega a su quinta edición. El propósito original del libro, la unidad de todos los procesos biológicos, desde los microorganismos hasta los animales y plantas más recientes, ha guiado la preparación de esta edición, realizada bajo la dirección del Prof. John L. Ingraham, discípulo, colaborador y profundo amigo —según el progreso de los años— del difunto Roger Y. Stanier (1916-1982), uno de los microbiólogos más importantes de este siglo.

Desde la publicación de la cuarta edición original (1976), la microbiología ha experimentado variaciones muy importantes, tanto en lo que se refiere a la casi explosiva expansión de datos experimentales sobre la estructura, función y evolución de los microorganismos, como a cambios fundamentales en nuestra percepción de las relaciones entre el mundo microbiano y el resto de la biosfera. Por lo tanto, la mayor parte de la quinta edición ha sido escrita de nuevo, y se le han añadido gran número de nuevas ilustraciones y tablas. Los capítulos dedicados a la genética molecular han sido profundamente ampliados y renovados, dedicando una especial atención a las nuevas técnicas del DNA recombinante, o ingeniería genética. Los que tratan de los grupos microbianos más importantes (especialmente la taxonomía bacteriana) han sido escritos de nuevo; en ese aspecto, doce capítulos reemplazan a los ocho de la cuarta edición. Entre los nuevos capítulos, hay uno dedicado exclusivamente a las arqueobacterias. Finalmente, y como reflejo de los avances fundamentales hechos en el campo de los microbios patógenos, esa sección también ha sido ampliada, y consta de cuatro capítulos en vez de los dos de la cuarta edición.

La presente versión española ha sido actualizada con respecto a la original en diversos temas, especialmente los referentes a la genética y fisiología bacterianas, incluyendo las aportaciones desarrolladas en los últimos años. Así mismo, se han incorporado las últimas modificaciones taxonómicas introducidas en la bacteriología. Se han cambiado o añadido algunas ilustraciones y tablas, y se han puesto al día la nomenclatura química y biológica y las referencias bibliográficas, haciendo constar las traducciones existentes de las obras citadas en la versión original.

Por todo ello, esta obra, en su quinta edición, sigue siendo el libro de texto de microbiología general más conocido en todo el mundo y el que tiene mayor influencia en las universidades y centros de investigación de muy diversos países.

Índice analítico

Prólogo V

Capítulo 1

Los comienzos de la Microbiología 1

- El descubrimiento del mundo de los microbios 2
- La controversia acerca de la generación espontánea 3
 - El experimento de Pasteur 4
 - El experimento de Tyndall 5
- Descubrimiento de la función de los microorganismos en las transformaciones de la materia orgánica 6
 - La fermentación como proceso biológico 6
 - Descubrimiento de la vida anaeróbica 7
 - Importancia fisiológica de la fermentación 7
- Descubrimiento de la función de los microorganismos como causantes de enfermedades 8
 - Antisepsia quirúrgica 8
 - Etiología bacteriana del carbunco 9
 - Nacimiento de la bacteriología médica 10
 - Descubrimiento de los virus 10
- Desarrollo de métodos de cultivo puro 10
 - Origen de la creencia en el pleomorfismo 11
 - Primeros cultivos puros 11
 - Desarrollo de los medios de cultivo por Koch y su escuela 12
- Los microorganismos como agentes geoquímicos 13
 - Métodos de cultivo de enriquecimiento 14
- Desarrollo de la microbiología en el siglo xx 14
- Lecturas adicionales 16

Capítulo 2

Métodos de la Microbiología 17

- Técnicas del cultivo puro 18
 - Aislamiento de cultivos puros por métodos de siembra en placa 18
 - Aislamiento de cultivos puros en medios líquidos 20
 - Cultivos bimembres 21

- Teoría y práctica de la esterilización 22
 - Esterilización por calor 22
 - Esterilización por tratamiento químico 23
 - Esterilización por filtración 23
- Fundamentos de la nutrición microbiana 24
 - Requerimientos de carbono 25
 - Requerimientos de nitrógeno y azufre 26
 - Factores de crecimiento 26
 - Funciones del oxígeno en la nutrición 28
 - Categorías de nutrición entre los microorganismos 28
- Confección de medios de cultivo 29
 - Control del pH 32
 - Prevención de precipitados minerales: agentes quelantes 33
 - Control de la concentración de oxígeno 33
 - Técnicas para el cultivo de anaerobios estrictos 34
 - Suministro de dióxido de carbono 34
 - Suministro de luz 34
- Medios selectivos 35
 - Aislamiento directo 35
 - Enriquecimiento 35
 - Métodos de enriquecimiento para algunos grupos fisiológicos especializados 36
 - Medios sintéticos de enriquecimiento para quimioheterotrofos 36
 - Enriquecimiento de organismos quimioautotróficos y fotosintéticos 37
 - Empleo de medios complejos para enriquecimiento 38
- Microscopia óptica 39
 - El microscopio óptico 39
 - Poder de resolución 40
 - El contraste y su realce en la microscopia óptica 41
 - Microscopia ultravioleta y de fluorescencia 42
- Microscopia electrónica 43
 - Microscopio electrónico de barrido 44
- Lecturas adicionales 45

Capítulo 3

Naturaleza del mundo microbiano 46

- Propiedades comunes de los sistemas biológicos 46

- Modelos de organización celular 47
 El problema de las divisiones primarias entre los organismos 48
 Situación de los microorganismos 48
 El concepto de protistas 50
- Eucariontes y procariontes 50
- Estructura de la membrana citoplasmática 52
- Estructura del citoplasma 53
- Sistemas de membranas citoplasmáticas 53
 La envoltura nuclear 53
 El retículo endoplasmático y el aparato de Golgi 55
 Membranas de los cloroplastos y de las mitocondrias 57
 Sistemas de membranas citoplasmáticas en las bacterias 58
- Elementos citoesqueléticos 59
 Microtúbulos 59
 Microfilamentos 59
 Filamentos intermedios 60
 Elementos citoesqueléticos en las bacterias 61
- Endocitosis y exocitosis 62
- Regulación osmótica en los microorganismos 63
- Estructura del cromosoma y del genóforo 63
 El cromosoma eucariótico 63
 El genóforo de las eubacterias 64
 El genóforo de las arqueobacterias 66
- Segregación del cromosoma y del genóforo 66
 Segregación de los cromosomas en eucariontes 66
 Segregación del genóforo en eubacterias 69
 Segregación del genóforo en arqueobacterias 70
- Transcripción y traducción del genoma 70
 Secuencia y elaboración del RNA estable 70
 Elaboración del RNA mensajero 71
 Iniciación de la traducción 73
 Factores de alargamiento en la traducción 73
 Estructura del ribosoma 73
 Acoplamiento de la transcripción y la traducción 74
- Genoma del cloroplasto y de la mitocondria 75
 Estructura del genoma en los cloroplastos y en las mitocondrias 75
 Expresión de los genomas de los cloroplastos y de las mitocondrias 75
 Orígenes evolutivos de los cloroplastos y de las mitocondrias 76
- Procesos sexuales en los microorganismos 76
 Procesos sexuales en los eucariontes 76
 Procesos sexuales en las bacterias 77
- Diferencias entre los tipos de células 79
- Propiedades generales de los virus 81
- Lecturas adicionales 82
- Capítulo 4**
Metabolismo microbiano: reacciones de mantenimiento 83
- Función del ATP en el metabolismo 84
- Otros compuestos con enlace de alta energía 85
- Función del poder reductor en el metabolismo 85
- Función de los metabolitos precursores en el metabolismo 87
- Mecanismos bioquímicos de generación de ATP 87
 Fosforilación a nivel de sustrato 87
 Formación de ATP por transporte de electrones 88
 Valores de E_0' en los componentes de las cadenas de transporte de electrones 89
 Componentes de las cadenas de transporte de electrones 90
 Disposición de las cadenas de transporte de electrones en la membrana celular 92
- Bioquímica de las reacciones de mantenimiento en los heterotrofos aeróbicos 93
 Rutas de formación de piruvato 93
 Rutas de utilización de piruvato por aerobios 96
 Función del ciclo del glioxilato en la oxidación del ácido acético 97
 Rutas especiales de ataque primario a compuestos orgánicos por microorganismos 98
- Reacciones de mantenimiento de los quimiotrofos anaeróbicos 99
 Respiración anaeróbica 99
 Fermentación 100
- Reacciones de mantenimiento de los autotrofos 101
 Ciclo de Calvin-Benson: síntesis de metabolitos precursores 102
 Generación de ATP y piridin-nucleótidos reducidos por los quimioautotrofos 102
- Fotosíntesis 103
 Antena de pigmentos captadores de luz 103
 Centros de reacción fotoquímica 105
 Cadena de transporte de electrones fotosintética 106
 Modelos de flujo de electrones 106
- Lecturas adicionales 107
- Capítulo 5**
Metabolismo microbiano: Biosíntesis, polimerización y ensamble 108
- Métodos para estudiar la biosíntesis 108
 Empleo de mutantes bioquímicos 109
 Empleo del marcaje isotópico 110
- Asimilación de nitrógeno y azufre 110
 Asimilación de amoníaco 111
 Asimilación de nitratos 112
 Asimilación de nitrógeno molecular 112
 Asimilación de sulfato 114
- Estrategia de la biosíntesis 114
- Síntesis de nucleótidos 115
 Síntesis de ribonucleótidos 115
 Síntesis de 2'-desoxirribonucleótidos 116

- Utilización de bases purínicas y pirimidínicas y de nucleósidos exógenos 118
- Síntesis de aminoácidos y otros constituyentes celulares nitrogenados 120
- La familia del glutamato 120
 - La familia del aspartato 120
 - La familia de los aminoácidos aromáticos 123
 - Las familias de la serina y del piruvato 125
 - Síntesis de histidina 125
 - Síntesis de otros compuestos nitrogenados por las rutas de los aminoácidos 127
- Síntesis de constituyentes lipídicos a partir del acetato 129
- Síntesis de ácidos grasos 129
 - Síntesis de fosfolípidos 133
 - Síntesis de compuestos poliisoprenoides 133
- Síntesis de porfirinas 134
- Variaciones de las rutas biosintéticas entre las bacterias 135
- Polimerización de elementos estructurales: principios generales 135
- Plan general de la síntesis de ácidos nucleicos y proteínas 136
- Polimerización de nucleótidos: síntesis del DNA 137
- La estructura antiparalela de la doble hélice del DNA 138
 - DNA polimerasas 138
 - Replicación 139
- Síntesis de RNA 141
- Síntesis de proteínas 142
- Iniciación de la transcripción 142
 - Terminación de la transcripción 144
 - Traducción 144
 - Activación de aminoácidos 145
 - Síntesis de ribosoma procariótico 145
 - Iniciación de la traducción 146
 - Alargamiento de la cadena peptídica 146
 - Estructura secundaria, terciaria y cuaternaria de las proteínas 149
- Síntesis de polisacáridos 150
- Síntesis de peptidoglicano 151
- Ensamble de biopolímeros en componentes celulares 151
- Lecturas adicionales 154
- ## Capítulo 6
- ### *Relaciones entre estructura y función en las células procarióticas 155*
- Estructuras superficiales de la célula procariótica 155
- Significado taxonómico 155
 - Estudios iniciales sobre la pared celular procariótica 157
- Estructuras superficiales de las arqueobacterias 158
 - Membrana celular 158
 - Pared celular bacteriana: peptidoglicano 161
 - Localización del peptidoglicano en las paredes de las bacterias Gram-negativas 164
 - Membrana externa de la pared 164
 - Periplasma 168
 - Peptidoglicano en las paredes de las bacterias Gram-positivas 169
 - Función de la capa de peptidoglicano 170
 - Topología de la síntesis de la pared y de la membrana 171
 - Cápsulas y capas mucosas 176
- Estructura molecular de flagelos y fimbrias 178
- Estructura basal del flagelo 179
 - Síntesis del filamento flagelar 181
 - Mecanismo del movimiento flagelar 181
- Comportamiento quimiotáctico de las bacterias móviles 182
- Comportamiento fototáctico de las bacterias rojas 183
- Orgánulos procarióticos especiales 184
- Vacuolas y vesículas de gas 184
 - Clorosomas 186
 - Carboxisomas (cuerpos poliédricos) 186
 - Magnetosomas 186
- Materiales celulares procarióticos de reserva 188
- Materiales orgánicos de reserva no nitrogenados 188
 - Materiales de reserva nitrogenados 191
 - Gránulos de polifosfato 191
 - Inclusiones de azufre 192
- Región nuclear 192
- Reconocimiento y demostración citológica de la región nuclear bacteriana 192
 - El genóforo bacteriano 192
 - Aislamiento de regiones nucleares bacterianas 193
- Lecturas adicionales 194
- ## Capítulo 7
- ### *Crecimiento microbiano 195*
- Definición de crecimiento 195
- Naturaleza y expresión matemática del crecimiento 196
- La curva de crecimiento 197
 - La fase de muerte 197
 - La fase de latencia 198
 - Crecimiento aritmético 198
- Medición del crecimiento 199
- Medición de la masa celular 199
 - Medición del número de células 199
 - Medición de un constituyente celular 201
- Eficiencia del crecimiento: rendimiento 201
- Crecimiento sincrónico 203
- Efecto de la concentración de nutrientes sobre la velocidad de crecimiento 204
- Cultivo continuo de microorganismos 205
- Quimiostatos y turbidostatos 207
 - Aplicación de los sistemas de cultivo continuo 208

Energía de mantenimiento 208
Lecturas adicionales 209

Capítulo 8

Efecto del medio sobre el crecimiento microbiano 210

Funciones de la membrana celular 210
Entrada de nutrientes en la célula 211
 Difusión pasiva 211
 Difusión facilitada 211
 Transporte de activo 212
 Proteínas de unión 212
 Transporte activo secundario 212
 Transporte activo dependiente de la energía de enlaces fosfato 213
 Translocación de grupos 213
 Mecanismo de transporte de membrana: resumen 214
Utilización de substratos que no pueden atravesar la membrana celular 215
Efecto de los solutos sobre el crecimiento y el metabolismo 218
 Tolerancia osmótica 219
 Requerimiento de Na⁺ en las bacterias 220
Efecto de la temperatura sobre el crecimiento microbiano 221
 Factores que determinan los límites de temperatura para el crecimiento 223
 Efectos de la temperatura de crecimiento sobre la composición lipídica 224
Relaciones con el oxígeno 225
 Toxicidad del oxígeno: mecanismos químicos 225
 Efecto fotooxidador 225
 Enzimas sensibles al oxígeno 226
 Función de las oxigenasas en los microorganismos aeróbicos 226
Lecturas adicionales 227

Capítulo 9

Los virus 228

Descubrimiento de los virus 228
Estructura de los virus 229
Clasificación de los virus 233
Ciclo de multiplicación vírica 233
 Entrada de los virus en las células hospedadoras 233
 Pérdida de la cubierta 237
 Replicación de los genóforos de los virus DNA 237
 Replicación de los genóforos de los virus RNA 240
 Funciones de los productos de los genes víricos 240
 Regulación de la expresión de los genes víricos 241
 Efectos deletéreos de la multiplicación vírica sobre el metabolismo de las células hospedadoras 243
 Ensamble del virión 243
 Liberación 244
 Ácido nucleico vírico infectivo 244

Detección y enumeración de virus 245
 Valoración en placa 245
Cinética de la multiplicación vírica 245
Lisogenia 246
 Lisogenia: fago tipo λ 247
 Lisogenia: fago tipo P1 247
 Regulación de la lisogenia en el fago λ 247
 Inducción 249
 Conversión lisogénica 249
Viroides 250
Priones 250
Lecturas adicionales 250

Capítulo 10

Genética microbiana: función de los genes y mutación 251

El genoma bacteriano 251
 Ordenamiento de los genes 252
Mutaciones 254
 Consecuencias de la mutación 255
 Mutágenos 257
 Consecuencias fenotípicas de las mutaciones 259
 Mutaciones expresadas condicionalmente 259
Metodología de los mutantes 262
Aislamiento de cepas mutantes 262
 Expresión fenotípica 262
 Enriquecimiento de células mutantes en una población 264
 Detección de clones mutantes 265
Dinámica de poblaciones 266
 Estimación de la tasa de mutación 266
 Equilibrio mutacional 269
 Efectos de la selección en las proporciones de tipos mutantes 270
Selección y adaptación 272
 Variabilidad genética de los cultivos puros 272
 Presiones selectivas en ambientes naturales 272
Consecuencias de la mutación en los orgánulos celulares 273
Tipos de mutantes de bacteriófagos 274
Lecturas adicionales 274

Capítulo 11

Genética microbiana: intercambio genético y recombinación 275

Transformación bacteriana 276
 Tipos de mecanismos de transformación encontrados en procariontes 276
 Sistemas de transformación natural: *Streptococcus pneumoniae* 276

- Sistemas de transformación natural: *Haemophilus influenzae* 279
 - Transformación natural por plásmidos 280
 - Transformación artificial 281
 - Función de la célula donadora en la transformación 282
 - Conjugación bacteriana 282
 - Propiedades del plásmido F 282
 - Cepas Hfr 283
 - Propiedades de los clones de células Hfr 284
 - Transferencia de otros plásmidos 286
 - Otros sistemas de conjugación en bacterias
 - Gram-negativas 286
 - Intercambio genético por conjugación entre bacterias
 - Gram-positivas 287
 - Transducción 288
 - Transducción generalizada mediante el fago P22 288
 - Utilización de la transducción generalizada en el laboratorio 289
 - Transducción especializada mediante el fago lambda 290
 - Análisis genético de los actinomicetes 291
 - Principales grupos de plásmidos 293
 - Detección y aislamiento de plásmidos 293
 - Plásmidos R 295
 - Otros caracteres codificados por plásmidos 296
 - Incompatibilidad entre plásmidos 297
 - Recombinación 297
 - Mecanismo molecular de la recombinación general 298
 - Secuencias de inserción, transposones y recombinación replicativa 298
 - Ingeniería genética 301
 - Enzimas de restricción 302
 - Cortado y recomposición del DNA 303
 - Lecturas adicionales 305
- ## Capítulo 12
- ### Regulación 306
- Tipos de mecanismos de control 306
 - Coordinación de los mecanismos de control: síntesis de un aminoácido 309
 - Coordinación de los mecanismos de control: síntesis de ribosomas 309
 - Mecanismos de inhibición por el producto final: proteínas alostéricas 310
 - Mecanismos de control de la transcripción 313
 - Control de la transcripción: proteínas que se unen al DNA 313
 - Control de la transcripción: Atenuación 316
 - Control de la transcripción: Factores sigma múltiples 319
 - Control de la traducción 319
 - Control postraducción 320
 - Alteración de la estructura del gen 321
 - Pautas de regulación 322
 - Inhibición por producto final en rutas ramificadas 323
 - Represión enzimática en rutas biosintéticas ramificadas 325
 - Ejemplos de regulación de rutas complejas 325
 - Diversidad de mecanismos regulatorios bacterianos 326
 - Regulación de la síntesis de DNA y de la división celular 327
 - Lecturas adicionales 331
- ## Capítulo 13
- ### Clasificación y filogenia de las bacterias 332
- Las especies como unidades de clasificación 332
 - Caracterización de las especies 333
 - Denominación de las especies 334
 - Problemas de la ordenación taxonómica 335
 - Planteamiento filogenético de la taxonomía 335
 - Taxonomía numérica 335
 - Nuevos planteamientos de la taxonomía bacteriana 336
 - La composición de bases del DNA: su determinación y significado 336
 - Implicaciones taxonómicas de la composición de bases del DNA 338
 - Hibridación de ácidos nucleicos 339
 - Técnicas e interpretaciones de los experimentos de reasociación 340
 - Secuencia de ácidos nucleicos 342
 - Secuencia de DNA 343
 - Secuencia de RNA 344
 - Filogenia bacteriana 345
 - Divisiones primarias de los organismos celulares 346
 - Grupos constituyentes de las arqueobacterias 346
 - Grupos constituyentes de las eubacterias 346
 - Implicaciones taxonómicas de la filogenia bacteriana 350
 - Lecturas adicionales 350
- ## Capítulo 14
- ### Las arqueobacterias 352
- Grupos que forman las arqueobacterias 352
 - Lípidos arqueobacterianos 353
 - Metanógenos 353
 - Diversidad de los metanógenos 353
 - Paredes celulares de los metanógenos 355
 - Cofactores exclusivos 358
 - Metabolismo energético 359
 - Asimilación de carbono 359
 - Ecología 360
 - Halófilos 360
 - Genoma de los halófilos 361
 - Paredes celulares de los halófilos 361
 - Fotofosforilación en *Halobacterium* 362
 - Termoacidófilos 363

Sulfolobus 363
Thermoplasma 365
 Grupo *Thermoproteus* 366

Lecturas adicionales 367

Capítulo 15

Eubacterias fotosintéticas 368

Propiedades comunes de las eubacterias fotosintéticas 369

Organización del aparato fotoquímico 369

Diferencias entre los principales grupos de eubacterias fotosintéticas 370

Química del aparato fotoquímico 370

Localización del aparato fotoquímico en las eubacterias fototróficas 375

Generación fotoquímica de reductor 377

Espectro de absorción celular de las eubacterias fotosintéticas 378

Colores de las eubacterias fotosintéticas 380

Cianobacterias 380

Fijación de nitrógeno 381

Fotosíntesis anoxigénica 383

Regulación de la síntesis de pigmentos 385

Grupos constituyentes de las cianobacterias 385

Ecología 397

Bacterias rojas 398

Bacterias rojas del azufre 400

Bacterias rojas no del azufre 403

Efectos del O₂ sobre el crecimiento y la síntesis de pigmentos en bacterias rojas no del azufre 404

Bacterias verdes 404

Bacterias verdes del azufre 405

Bacterias verdes no del azufre: el grupo

Chloroflexus 406

Restricciones ecológicas impuestas por la fotosíntesis anoxigénica 407

Bacterioclorofila en las eubacterias aeróbicas 408

Heliobacterium 409

Lecturas adicionales 409

Capítulo 16

Eubacterias quimioautotróficas y metófilas 410

Quimioautotrofos 410

Substratos utilizables 411

Bacterias nitrificantes 411

Oxidadores de azufre 412

Bacterias del hierro 418

Bacterias del hidrógeno 418

Carboxidobacterias 419

Bases metabólicas de la quimioautotrofia 419

Conservación de energía y reducción de nucleótidos de piridina 419

Fenómenos de la autotrofia estricta 421

Materiales de reserva de carbono en los quimioautotrofos 422

Inhibición del crecimiento por compuestos orgánicos 422

Metófilos 422

Metabolismo de los compuestos metilo 423

Asimilación de carbono por los metófilos 424

Metanotrofos 424

Estados de reposo de los metanotrofos 426

Metilotrofos 426

Oxígenos de los quimioautotrofos y metófilos 428

Lecturas adicionales 429

Capítulo 17

Eubacterias aeróbicas Gram-negativas 430

Pseudomonas aeróbicas 432

Grupo *fluorescens* 433

Grupo *pseudomallei* 434

Grupo *acidovorans* 434

Grupo *diminuta* 434

Grupo *xanthomonas* 436

Grupo *zoogloea* 436

Grupo *Rhizobium* 436

Rizobios 437

Género *Agrobacterium* 441

Bacterias con prostecas 442

Grupo *Azotobacter* 443

Bacterias del ácido acético 446

Bacterias con vaina 448

Grupo *Spirillum* 449

Grupo *Moraxella* 453

Grupo *Legionella* 455

Grupo *Planctomyces* 455

Lecturas adicionales 456

Capítulo 18

Eubacterias deslizantes 457

Mixobacterias 458

Mixobacterias no fructificantes 464

Grupo *Cytophaga* 464

Quimioheterotrofos deslizantes filamentosos 467

Lecturas adicionales 469

Capítulo 19

Grupo entérico y eubacterias relacionadas 470

Propiedades comunes del grupo entérico 471

- Metabolismo fermentativo 471
- Caracteres fisiológicos del valor diferencial 475
- Relaciones genéticas entre las bacterias entéricas 476
- Subdivisión taxonómica del grupo entérico 476
 - Grupo I: *Escherichia-Salmonella-Shigella* 476
 - Grupo II: *Enterobacter-Serratia-Erwinia* 478
 - Grupo III: *Proteus-Providencia* 479
 - Grupo IV: *Yersinia* 479
 - Especies con flagelos polares: *Aeromonas-Vibrio-Photobacterium* 480
 - Zymomonas* 482
- Bacterias coliformes en los análisis sanitarios 483
- Lecturas adicionales 484

Capítulo 20

Eubacterias Gram-negativas anaeróbicas 485

- Eubacterias fermentadoras Gram-negativas 485
 - Patrones de fermentación de las eubacterias Gram-negativas 486
 - Respiración de fumarato 488
 - Respiración de nitrato 488
 - Grupos constituyentes de eubacterias fermentadoras Gram-negativas 489
- Bacterias reductoras del azufre 491
 - Ruta de la reducción de sulfato 491
 - Diversidad de bacterias oxidadoras del azufre 494
 - Actividades ecológicas 495
- Lecturas adicionales 496

Capítulo 21

Eubacterias Gram-negativas: espiroquetas, riquetsias y clamidias 497

- Espiroquetas 497
 - Motilidad de las espiroquetas 499
 - División celular en espiroquetas 500
 - Diversidad de las espiroquetas 500
 - Espiroquetas simbióticas de animales invertebrados 502
- Riquetsias 502
- Clamidias 507
- Lecturas adicionales 508

Capítulo 22

Eubacterias Gram-positivas: Formadores unicelulares de endosporas 509

- Endospora 510
 - Formación de la endospora 511
 - Otros acontecimientos bioquímicos relacionados con la esporulación 514
 - Activación, germinación y desarrollo de las endosporas 515
 - Clasificación de los formadores de endosporas 515
 - Estructura del peptidoglicano 516
- Bacterias aeróbicas productoras de esporas 517
 - Género *Bacillus* 517
 - Bacilos termófilos 521
 - Composición lipídica de los bacilos 521
 - Género *Thermoactinomyces* 521
- Esporógenos anaeróbicos 522
 - Clostridios del ácido butírico 523
 - Catabolismo anaeróbico de aminoácidos por clostridios 524
 - Fermentación de compuestos con un anillo nitrogenado 526
 - Fermentaciones de carbohidratos por clostridios que no producen ácido butírico 527
 - Fermentación de etanol-acetato por *Clostridium kluyveri* 528
 - Género *Desulfotomaculum* 528
 - Género *Sporolactobacillus* 529
- Lecturas adicionales 529

Capítulo 23

Eubacterias fermentadoras Gram-positivas 530

- Género *Staphylococcus* 530
- Bacterias del ácido láctico 531
 - Tipos de fermentación de carbohidratos en las bacterias del ácido láctico 533
 - Subdivisión de las bacterias del ácido láctico 535
- Otros anaerobios Gram-positivos 536
- Lecturas adicionales 540

Capítulo 24

Eubacterias Gram-positivas: Actinomicetes 541

- Características de los actinomicetes 541
 - Movilidad 541
 - Paredes celulares 542
 - Modelos de desarrollo en los actinomicetes miceliales 542
- Grupos importantes de actinomicetes 543
 - Actinobacterias 543
 - Bacterias del grupo *Nocardia* 547
 - Grupo *Dermatophilus* 548
 - Estreptomicetes 551
 - Actinoplanetes 555
- Lecturas adicionales 556

Capítulo 25***Mollicutes 557***

Metabolismo de los mollicutes 558

Morfología y reproducción 559

Mycoplasma 560*Acholeplasma* 561*Spiroplasma* 561*Anaeroplasma* 561*Ureaplasma* 561

Lecturas adicionales 561

Capítulo 26***Protista 562***

Algas 563

Flagelados fotosintéticos 564

Algas unicelulares no flageladas 565

Distribución natural de las algas 568

Versatilidad nutricional de las algas 568

Algas leucofíticas 568

Protozoos 569

Orígenes de los protozoos 569

Protozoos flagelados: Mastigophora 570

Protozoos ameboides: Rhizopoda 571

Protozoos ciliados: Ciliophora 572

Hongos 574

Los hongos primitivos: Phycomycetes acuáticos 575

Phycomycetes terrestres 576

Distinción entre Phycomycetes y hongos superiores 578

Ascomycetes y Basidiomycetes 578

Fungi Imperfecti 578

Levaduras 579

Hongos mucosos 580

Los protistas: Resumen 582

Lecturas adicionales 582

Capítulo 27***Los microorganismos como agentes geoquímicos 583***

Idoneidad de los microorganismos como agentes de cambio geoquímico 584

Distribución de los microorganismos en el espacio y el tiempo 584

Potencial metabólico de los microorganismos 584

Versatilidad metabólica de los microorganismos 585

Ciclos de la materia 585

Ciclo del fósforo 585

Ciclo del oxígeno 586

Ciclo del carbono 586

Proceso de mineralización: formación de dióxido de carbono y reducción del oxígeno 587

Secuestro de carbono: depósitos inorgánicos 587

Secuestro de carbono: depósitos orgánicos 587

Ciclo del nitrógeno 588

Fijación del nitrógeno 589

Utilización del nitrógeno fijado 590

Transformaciones de nitrógeno orgánico por las cuales se forma amoníaco 590

Nitrificación 591

Desnitrificación 591

Ciclo del azufre 592

Asimilación del sulfato 593

Transformación de compuestos orgánicos del azufre y formación de H₂S 593Formación directa de H₂S a partir de sulfato 594Oxidación del H₂S y del azufre 594

Ciclo de la materia a través del tiempo geológico 594

Influencia del hombre en el ciclo de la materia 595

Tratamiento de aguas residuales 595

Diseminación de productos químicos orgánicos sintéticos 596

Lecturas adicionales 597

Capítulo 28***Simbiosis 598***

Tipos de simbiosis 598

Simbiosis mutualistas 599

Simbiosis parasíticas 600

Parasitismo como aspecto de la ecología 600

Funciones de las simbiosis 601

Protección 601

Aporte de una posición favorable 601

Provisión de mecanismos de reconocimiento 603

Nutrición 603

Establecimiento de las simbiosis 604

Transmisión directa 604

Reinfección 605

Evolución de las simbiosis 605

Asociaciones simbióticas entre organismos fotosintéticos y no fotosintéticos 606

Simbiosis en las que el socio fotosintético es una planta superior 607

Rizosfera 608

Micorrizas 608

Simbiosis en las que el miembro fotosintético es un microorganismo 609

Endosimbiontes de protozoos 609

Simbiosis con hongos: líquenes 610

Endosimbiosis de algas con invertebrados acuáticos 614

Asociaciones simbióticas entre dos miembros no fotosintéticos 614

Simbiosis en las que ambos socios son microorganismos 615

Endosimbiontes bacterianos de los protozoos 615
 Simbiosis entre microorganismos y hospedadores
 metazoarios 618

Endosimbiosis de protozoos con insectos: flagelados
 intestinales de termites xilófagos y cucarachas 618
 Endosimbiosis de hongos y bacterias con insectos 619
 Las simbiosis de los rumiantes 621
 Ectosimbiosis de microorganismos con aves: pájaro
 de la miel 624

Lecturas adicionales 624

Capítulo 29

Defensa no específica del hospedador 626

Barreras físicas y químicas para la infección 626

Superficies del cuerpo 626
 Compuestos antimicrobianos 627
 Secuestro del hierro 627

Función protectora de la microbiota del
 hospedador 627

Animales libres de gérmenes 628
 Biota normal de la piel 629
 Biota normal de la boca y del tracto respiratorio
 superior 630
 Biota intestinal normal 630

Función de las células fagocíticas del hospedador
 animal 630

Leucocitos 631
 Fagocitosis 632

Inflamación 635

Mediadores químicos de la inflamación 635
 Quimiotaxis durante la inflamación 636

Defensa no específica contra los virus 637

Lecturas adicionales 638

Capítulo 30

El sistema inmunitario 639

Anticuerpos y antígenos 640

Dominios constantes y variables 642
 IgG 643
 IgA 643
 IgM 643
 IgD 644
 IgE 644
 Antígenos y anticuerpos 644

Fuentes de anticuerpos 645

Inmunización 645
 Hibridomas 646

Consecuencias de la unión antígeno-anticuerpo en el
 hospedador 646

Neutralización de toxinas y virus 646

Formación del complejo inmunitario y
 aglutinación 646

Ruta clásica de fijación del complemento 647
 Ruta alternativa del complemento 648
 Opsonización 648
 Inflamación 649

Consecuencia de la unión antígeno-anticuerpo in
 vitro 649

Reacciones de aglutinación 649
 Inmunoprecipitación 650
 Inmunodifusión 650
 Inmunolectroforesis 651
 Fijación del complemento 651
 Radioinmunoensayo 652
 Técnicas en las que se emplean anticuerpos
 conjugados 653

Base de la diversidad de anticuerpos 654

Teorías de la «línea germinal» y de la «mutación
 somática» 654

Cómo se genera la diversidad de la cadena κ 655
 Cómo se genera la diversidad de la cadena λ 655
 Cómo se genera la diversidad de la cadena pesada 656
 ¿Cuántos anticuerpos diferentes? 657

Funciones de las células T 657

Células T-efectoras 658
 Células T-reguladoras 658
 Antígenos de histocompatibilidad 659

Inmunización 659

Inmunización pasiva 660
 Inmunización activa 660
 Cepas atenuadas 660
 Toxoides 661
 Cinética de la inmunización 662

Hipersensibilidad y autoinmunidad 663

Anafilaxia 663
 Citotoxicidad dependiente de anticuerpos 664
 Alteraciones debidas a complejos inmunitarios 664
 Hipersensibilidad retardada 664
 Enfermedades autoinmunitarias 664

Lecturas adicionales 664

Capítulo 31

Patogénesis microbiana 666

Toxinas bacterianas 666

Identificación de toxinas bacterianas 668

Ejemplos de patogénesis causada por toxinas 668

Difteria 668
 Tétanos 669
 Cólera 669

Intoxicación alimentaria estafilocócica 670
 Intoxicación alimentaria por clostridios 670
 Intoxicación alimentaria causada por bacterias
 entéricas 670

Botulismo 672
 Síndrome del shock tóxico 672
 Enfermedades causadas por micotoxinas 673

Colonización e invasión bacterianas 673

- Incorporación del hierro 673
- Adherencia 674
- Crecimiento intracelular 674
- Resistencia a la fagocitosis 674
- Variación antigénica y remedio antigénico 676
- Virus y cáncer 676
 - Función de los virus DNA en el cáncer humano 677
 - Función de los virus RNA en el cáncer humano 678
 - Modelo de cáncer de células animales en cultivo 678
 - Transformación por SV40 678
 - Transformación por retrovirus 679
 - Oncogenes celulares 679
- Lecturas adicionales 680

Capítulo 32

Patógenos humanos 682

- Epidemiología de las enfermedades infecciosas 682
 - Reservorios de la infección 682
 - Modos de transmisión 682
- Patógenos bacterianos 684
 - Enfermedades estafilocócicas 684
 - Enfermedades estreptocócicas 686
 - Enfermedades causadas por bacterias que forman endosporas 687
 - Enfermedades causadas por micobacterias 687
 - Listeriosis 688
 - Enfermedades causadas por bacterias entéricas 688
 - Diarrea causada por *Campylobacter* 689
 - Enfermedad de los legionarios 689
 - Tularemia 689
 - Brucelosis 689
 - Enfermedades causadas por *Pseudomonas* 690
 - Enfermedades causadas por especies de *Bordetella* y *Haemophilus* 690
 - Enfermedades neiséricas 690
 - Enfermedades causadas por micoplasmas 690
 - Enfermedades causadas por espiroquetas 691
 - Enfermedades riquetsicas 691
 - Enfermedades causadas por clamidias 692
- Enfermedades fúngicas 692
 - Dermatomicosis 692
 - Micosis subcutáneas 692
 - Micosis sistémicas (profundas) 693
- Enfermedades causadas por protozoos 694
 - Malaria 694
 - Enfermedades causadas por leishmanias 696
 - Enfermedades causadas por tripanosomas 696
 - Disenteria amebiana 697
 - Giardiasis 697
 - Tricomonirosis 697
 - Toxoplasmosis 699
 - Pneumonía por *Pneumocystis* 699
- Enfermedades víricas 699
 - Enfermedades causadas por herpesvirus 699
 - Enfermedades causadas por poxvirus 700
 - Hepatitis del suero 701
 - Enfermedades causadas por picornavirus 701

- Gripe 702
- Sarampión, paperas y rubéola 703
- Rabia 703
- Enfermedades causadas por rotavirus 703
- Enfermedades causadas por togavirus 703
- Enfermedades causadas por retrovirus 703

Lecturas adicionales 705

Capítulo 33

Aprovechamiento de los microorganismos por el hombre 707

- Procesos microbianos tradicionales que utilizan levaduras 707
 - Fabricación del vino 708
 - Fabricación de la cerveza 709
 - Fabricación del pan 710
- Procesos microbianos tradicionales que utilizan bacterias del ácido acético 711
- Usos de las bacterias del ácido láctico 712
 - Productos lácteos 712
 - Fermentación láctica de materiales vegetales 712
 - Producción de dextrano 713
- Usos de las bacterias del ácido butírico 714
 - Enriado 714
 - Fermentación de la acetona-butanol 714
- Microbios como fuentes de proteína 714
 - Producción de levaduras a partir del petróleo 715
 - Producción de bacterias a partir del petróleo 715
 - Producción de aminoácidos específicos 715
- Producción microbiana de agentes quimioterapéuticos 716
 - Desarrollo de la quimioterapia 716
 - Descubrimiento de los antibióticos 717
 - Modo de acción de los antibióticos 720
 - Descubrimiento de los antibióticos 717
 - Modo de acción de los antibióticos 720
 - Producción de antibióticos 720
 - Resistencia microbiana a los antibióticos 721
 - Transformaciones microbianas de esteroides 722
- Métodos microbianos para el control de insectos 723
- Producción de otras sustancias químicas por microorganismos 723
- Producción de enzimas por microorganismos 724
- Impacto de la tecnología del DNA recombinante en la producción por microorganismos de productos útiles 725
- Lecturas adicionales 725

Índice alfabético 727

Capítulo 1

Los comienzos de la microbiología

La microbiología estudia los organismos que son demasiado pequeños para ser claramente percibidos a simple vista, y que se denominan *microorganismos*. Si un objeto tiene un diámetro inferior a 0,1 mm, el ojo no puede percibirlo en absoluto, e incluso en un objeto de 1 mm de diámetro pueden apreciarse muy pocos detalles. Por lo tanto, hablando en términos generales, los organismos que tienen un diámetro de 1 mm o inferior son microorganismos y caen dentro del amplio dominio de la microbiología. Los microorganismos tienen una extensa distribución taxonómica; incluyen algunos animales, protozoos,* muchas algas y hongos, bacterias y virus. La existencia de este mundo microbiano se desconocía hasta la invención de los microscopios, instrumentos ópticos que sirven para ampliar objetos que son tan pequeños que no pueden verse claramente por el ojo humano sin ayuda. Los microscopios, inventados a principios del siglo XVII, abrieron el reino biológico de lo muy pequeño a la exploración científica sistemática.

Los microscopios primitivos eran de dos clases. Los primeros eran *microscopios simples*, con una sola lente de distancia focal muy pequeña y, en consecuencia, capaces de gran aumento; tales instrumentos no se diferenciaban en su fundamento óptico de las lupas ordinarias, capaces de aumentar una imagen varias veces y que se conocen desde la antigüedad. Los segundos eran *microscopios compuestos* con un sistema de dos lentes, un ocular y un objetivo. El microscopio compuesto tiene un mayor poder intrínseco de aumento y llegó a desplazar por completo al instrumento simple; todos nuestros microscopios contemporáneos son del tipo compuesto. Sin embargo, casi todos los grandes descubrimientos microscópicos originales fueron hechos con microscopios simples.

* A lo largo de esta obra se mantiene el término clásico de «protozoos», a pesar de lo inapropiado de su etimología, que significa «primeros animales», cosa que no son. El término más general de «protistas» comprendería los distintos grupos de microorganismos eucarióticos, incluyendo o exceptuando los hongos según los autores (véase el capítulo 3). De acuerdo con ello, en este libro los protozoos deben entenderse como un conjunto de protistas no fotosintéticos, generalmente móviles y unicelulares, que comprende grupos como los mastigóforos, rizópodos, «esporozoos» y ciliados (véase el capítulo 26). (*N. de los T.*)

EL DESCUBRIMIENTO DEL MUNDO DE LOS MICROBIOS

El descubridor del mundo microbiano fue un comerciante holandés. Antony van Leeuwenhoek (figura 1.1). Sus actividades científicas estaban encajadas dentro de una vida llena de negocios y de obligaciones cívicas. En esto, no fue la excepción de su época: muchos de los grandes descubrimientos de este periodo, en todos los campos de la ciencia, fueron realizados por aficionados que se ganaban la vida de otra manera, o que no tenían necesidad de trabajar para vivir, por sus riquezas personales. Sin embargo, Leeuwenhoek se diferenciaba de sus contemporá-



FIGURA 1.1

Antony van Leeuwenhoek (1632-1723). En este retrato está sujetando uno de sus microscopios. Cortesía del Rijksmuseum de Amsterdam.

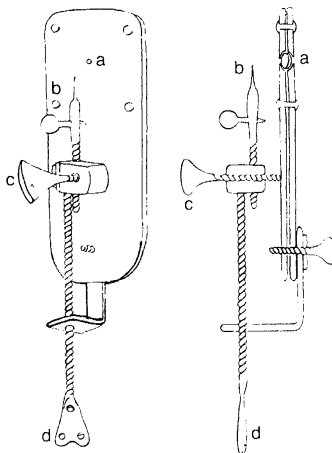
neos científicos en un aspecto: tenía muy poca formación básica y nunca asistió a la universidad. Probablemente esto no fue un inconveniente, desde el punto de vista científico, ya que la formación científica que se podía adquirir en aquella época hubiera proporcionado poca base al trabajo de su vida. Las dificultades más serias surgieron en el momento en que trató de comunicar sus descubrimientos, ya que no tenía relaciones con el mundo de la gente instruida y además no sabía más idioma que el holandés. Sin embargo, gracias a una serie de circunstancias afortunadas, su trabajo llegó a ser ampliamente conocido durante su propia vida, y su importancia fue reconocida de inmediato. En la época en que Leeuwenhoek comenzó sus observaciones, se había fundado en Inglaterra la «Royal Society» para la comunicación y publicación de trabajos científicos. La Sociedad invitó a Leeuwenhoek a que comunicase sus observaciones a sus miembros y pocos años más tarde (1680) lo nombró miembro. Durante casi 50 años, hasta su muerte en 1723, Leeuwenhoek transmitió sus descubrimientos a la «Royal Society», en forma de una larga serie de cartas escritas en holandés. Muchas de estas cartas fueron traducidas y publicadas en inglés en los *Proceedings of the Royal Society*, con lo cual fueron rápida y ampliamente difundidas.

Los microscopios de Leeuwenhoek (figura 1.2) tenían poco parecido con los microscopios que hoy nos son familiares. La lente, casi esférica (a), estaba montada entre dos pequeñas placas metálicas. La muestra se colocaba en la punta de un alfiler romo (b), unido a la placa posterior, y se enfocaba manipulando dos tornillos (c) y (d) que variaban la posición del alfiler con respecto a la lente. Durante esta operación, el observador mantenía el instrumento con su otra cara muy próxima al ojo, y miraba al soslayo a través de la lente. No era posible cambiar el aumento al ser el poder amplificador del microscopio una propiedad intrínseca de su lente. A pesar de la sencillez de su construcción, los microscopios de Leeuwenhoek eran capaces de proporcionar imágenes claras con aumentos que oscilaban, dependiendo de la distancia focal de la lente, desde unas 50 hasta cerca de 300 veces. La mayor amplificación que podía obtener era, en consecuencia, algo menor que un tercio de la que puede obtenerse con un moderno microscopio óptico. Leeuwenhoek construyó casi trescientos de ellos, de los cuales nos quedan todavía unos cuantos.

El lugar que Leeuwenhoek ocupa en la historia de la ciencia no depende sólo de su habilidad como constructor de microscopios, aunque esto fuera esencial, sino de la extraordinaria extensión y agudeza de sus observaciones microscópicas. Estaba dotado de un grado de curiosidad poco frecuente y estudiaba cualquier objeto que pudiera ser examinado a través del microscopio. Hizo magníficas observaciones acerca de la estructura micros-

FIGURA 1:2

Dibujo que muestra la construcción de uno de los microscopios, de Leeuwenhoek: (a) lente, (b) alfiler de montaje, (c) y (d) tornillos de enfoque. De la obra *Antony van Leeuwenhoek and His Little Animals*, de C. E. Dobell (New York: Rusell and Rusell, Inc., 1932).



cópica de semillas y embriones de plantas y sobre pequeños invertebrados. Descubrió la existencia de los espermatozoides y de los glóbulos rojos de la sangre, siendo, por lo tanto, el fundador de la histología animal. Al descubrir y describir la circulación por los capilares, completó el trabajo sobre la circulación de la sangre, iniciado por Harvey medio siglo antes. Sería muy fácil llenar una página sólo con la lista de sus descubrimientos más importantes sobre la estructura de plantas y animales. Sin embargo, su mayor gloria radica en el descubrimiento del mundo microbiano; el mundo de los «animáculos» o animales diminutos, como lo denominaron él y sus contemporáneos. De este modo se aportó a la biología una nueva dimensión. Todas las clases principales de microorganismos unicelulares que hoy conocemos —protozoos, algas, levaduras y bacterias— fueron descritas por vez primera por Leeuwenhoek, y con frecuencia con tanta precisión que, basándose en sus descripciones, es posible identificar especies concretas. Además de en la diversidad de este mundo microbiano, Leeuwenhoek hizo hincapié en su increíble abundancia. Así, por ejemplo, en una de sus cartas que describe por primera vez las bacterias características de la boca humana, decía:

He tenido en casa varias señoras muy interesadas en ver las pequeñas anguítulas del vinagre, pero a algunas de ellas les gustó tan poco el espectáculo que prometieron no volver a utilizar vinagre. Sin embargo, ¿qué pasaría si se le dijera a esta gente en el futuro, que en la capa que recubre los dientes de la boca de un hombre hay más animales vivos que personas en todo un reino?

Aunque los contemporáneos de Leeuwenhoek se maravillaron ante sus descubrimientos científicos, la exploración microscópica del mundo microbiano, que él había iniciado tan brillantemente, no se extendió de manera apreciable hasta un siglo después de su muerte. Las principales razones de este largo retraso parecen haber sido de orden técnico. Los microscopios simples de elevado poder amplificador son a la vez difíciles y cansados de utilizar, y la fabricación de lentes muy pequeñas constituye una operación que requiere gran habilidad. En consecuencia, la mayoría de los contemporáneos de Leeuwenhoek y sus sucesores inmediatos utilizaron microscopios compuestos. A pesar de la superioridad intrínseca de los microscopios compuestos, aquéllos de los que se disponía en los siglos XVII y XVIII adolecían de graves defectos ópticos, que los convertían en instrumentos de trabajo menos efectivos que los microscopios simples de Leeuwenhoek. Por ello, Robert Hooke, contemporáneo inglés de Leeuwenhoek, que era un observador muy hábil y cuidadoso, no logró repetir con su propio mi-

croscopio compuesto muchas de las observaciones más detalladas descritas por Leeuwenhoek.

Los principales perfeccionamientos ópticos que habían de conducir a microscopios compuestos de la calidad que hoy disfrutamos comenzaron hacia 1820 y continuaron durante los cincuenta años siguientes. Estas mejoras permitieron reanudar la exploración del mundo microbiano y dieron como resultado, a finales del siglo XIX, un detallado conocimiento de los grupos que lo constituyen. Durante este tiempo, sin embargo, la ciencia microbiológica se había ido desarrollando por otros caminos que condujeron al descubrimiento del papel que desempeñan los microorganismos en las transformaciones de la materia y causalidad de enfermedades.

LA CONTROVERSIACERCA DE LA GENERACIÓN ESPONTÁNEA

Después que Leeuwenhoek hubo revelado el enorme número de criaturas microscópicas presentes en la naturaleza, los científicos comenzaron a preguntarse cuál sería su origen. Desde el principio hubo dos puntos de vista. Algunos creían que los animáculos se formaban de manera espontánea a partir de materiales sin vida, mientras que otros (incluido Leeuwenhoek) opinaban que surgían de «semillas» o «gérmenes» de estos animáculos que estaban siempre presentes en el aire. La creencia en la formación espontánea de seres vivos a partir de materia sin vida se conoce como doctrina de la *generación espontánea* o *abiogénesis* y ha tenido una larga existencia. En los tiempos antiguos se consideraba evidente que muchas plantas y animales pudiesen generarse espontáneamente bajo condiciones especiales. La doctrina de la generación espontánea fue aceptada sin objeciones hasta la época del Renacimiento.

A medida que se iban acumulando conocimientos acerca de los organismos vivos fue haciéndose patente, de manera gradual, que no hay generación espontánea de animales y plantas. Un paso decisivo para que se abandonase esta doctrina aplicada a los animales fue resultado de los experimentos realizados hacia 1665 por el médico italiano Francesco Redi. Demostró que los «gusanos» que se desarrollan en la carne en putrefacción son los estados larvarios de moscas y que nunca aparecen si se protege la carne colocándola dentro de una vasija cerrada con una fina gasa que impida que las moscas depositen sus huevos en ella. Mediante estos experimentos, Redi acabó con el mito de que los «gusanos» se desarrollaban espontáneamente a partir de la carne. En consecuencia, en la época en que Leeuwenhoek descubrió el mundo de los microbios, la doctrina de la generación espontánea se hallaba ya enormemente debilitada

por los estudios sobre el desarrollo de los animales y las plantas. Por razones técnicas, resulta mucho más difícil demostrar que los microorganismos no se generan espontáneamente y por ello, a medida que fue pasando el tiempo, los defensores de la doctrina fundaron cada vez más sus afirmaciones en la misteriosa aparición de estas formas, las más sencillas de la vida, en las infusiones orgánicas. Los que no creían en la generación espontánea de los microorganismos estaban en la postura, siempre difícil, de tener que demostrar un aspecto negativo; de hecho, hasta mediados del siglo XIX no se acumuló la suficiente evidencia negativa que llevara al abandono generalizado de esta doctrina.

Uno de los primeros que aportaron pruebas acerca de que los microorganismos no surgen espontáneamente en las infusiones orgánicas fue el naturalista italiano Lazzaro Spallanzani, quien realizó una larga serie de experimentos sobre este problema a mediados del siglo XVIII. Demostró repetidamente que el calentamiento puede evitar la aparición de animáculos en las infusiones, aunque la duración del calentamiento necesario para este fin es variable. Spallanzani llegó a la conclusión de que estos animáculos pueden ser llevados hasta las infusiones por el aire y que ésta es la explicación de su supuesta generación espontánea en las infusiones que habían sido calentada. Los primeros investigadores habían tapado sus matraces con corchos, pero Spallanzani, que no estaba convencido de que los tapones impidieran la entrada de aire, recurrió al cierre hermético. Observó que en las infusiones que después de cerradas herméticamente llevaban mucho tiempo estériles, si se producía una pequeña grieta en el recipiente aparecían animáculos. Su conclusión final fue que, para hacer una infusión *permanentemente* estéril, debe estar herméticamente cerrada y hervida. Los animáculos no pueden aparecer jamás a no ser que, de alguna manera, entre aire nuevo en el matraz y se ponga en contacto con la infusión.

Los maravillosos experimentos de Spallanzani mostraron claramente todas las dificultades de un trabajo de este tipo. Sin embargo, continuaron haciéndose experimentos defectuosos y los resultados siguieron presentándose como prueba de que tenía lugar la generación espontánea. Mientras tanto, se había hecho una interesante aplicación *práctica* de los descubrimientos de Spallanzani. Como sus experimentos habían demostrado que ni siquiera las infusiones más alterables de vegetales y animales sufrían de animáculos, parecía probable que estos cambios químicos estuviesen, de alguna manera relacionados con el desarrollo de microbios. A principios del siglo XIX, François Appert encontró que se pueden conservar alimentos encerrándolos en recipientes herméticos y calentando estos recipientes. De esta manera logró conservar indefinidamente alimentos muy

percederos y la «appertización», como se llamó a este original proceso conservero, se difundió extensamente para la conservación práctica de alimentos, mucho antes de que la cuestión científica hubiese quedado definitivamente zanjada.

A finales del siglo XVIII los trabajos de Priestley, Cavendish y Lavoisier establecieron las bases de la química de los gases. Uno de los primeros gases descubiertos fue el oxígeno, que en seguida se vio que era esencial para la vida de los animales. A la luz de estos conocimientos, parecía posible que el cierre hermético recomendado por Spallanzani y practicado por Appert era eficaz para evitar la aparición de microbios y la descomposición de la materia orgánica no porque excluyera el aire portador de gérmenes, sino porque eliminaba el oxígeno requerido tanto par el desarrollo microbiano como para la iniciación de la fermentación o de la putrefacción. Consecuentemente, la influencia del oxígeno en estos procesos fue un tema de mucha discusión a principios del siglo XIX. Finalmente, se demostró que ni el crecimiento ni la descomposición tienen lugar en una infusión que haya sido convenientemente calentada, aun cuando se la exponga al aire, con tal de que el aire que penetre en la infusión haya sido previamente tratado de manera adecuada para eliminar todos los gérmenes que contenga.

Experimentos de Pasteur

Hacia 1860, varios científicos habían empezado a darse cuenta de que existe una *relación causal* entre el desarrollo de microorganismos en infusiones orgánicas y los cambios químicos que tienen lugar en estas infusiones; *los microorganismos son los agentes que originan estos cambios químicos*. El gran pionero en estos estudios fue Louis Pasteur (figura 1.3). Sin embargo, la aceptación de esta idea estaba condicionada a la demostración de que la generación espontánea no existe. Estimula-



FIGURA 1.3

Louis Pasteur (1822-1895). Cortesía del Instituto Pasteur de París.

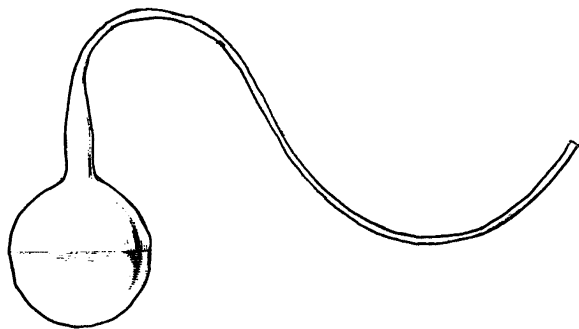


FIGURA 1.4

Matraz con cuello de cisne usado por Pasteur durante sus estudios sobre la generación espontánea. La construcción del cuello permitía el libre acceso del aire al contenido del matraz, pero impedía la entrada de los microorganismos presentes en el aire.

do por las continuas pretensiones de los partidarios de la doctrina de la generación espontánea. Pasteur prestó al fin su atención a este problema. Su trabajo sobre este tema fue publicado en 1861 como *Memoria sobre los cuerpos organizados que existen en la atmósfera*.

Pasteur demostraba, en primer lugar, que el aire contiene «cuerpos organizados» visibles con ayuda del microscopio. Aspiraba grandes cantidades de aire a través de un tubo con un tapón de algodón pólvora, que servía de filtro. Quitaba luego el algodón pólvora y lo disolvía en una mezcla de alcohol y éter, y el sedimento lo observaba microscópicamente. Además de materia inorgánica, contenía un número considerable de pequeños cuerpos redondos u ovalados, que no se distinguían de los microorganismos. Pasteur confirmó luego el hecho de que se puede añadir aire calentado a una infusión hervida sin dar lugar al desarrollo microbiano. Habiendo establecido este punto, demostró que, en un sistema cerrado, la adición de un trozo de algodón pólvora cargado de gérmenes a una infusión estéril provocaba invariablemente el desarrollo microbiano. Estos experimentos mostraron a Pasteur cómo pueden entrar los gérmenes en las infusiones y le llevaron a lo que tal vez constituyó su experimento más elegante sobre este tema. Fue la demostración de que las infusiones pueden permanecer indefinidamente estériles, en matraces abiertos, siempre que el cuello del matraz se estire y se curve de forma que los gérmenes del aire no puedan ascender por él. Los matraces de Pasteur con cuello de cisne pueden verse en la figura 1.4. Si se rompía el cuello de tales matraces, la infusión se poblaba rápidamente de microbios. Lo mismo ocurría si el líquido estéril del matraz se vertía en la porción expuesta del cuello curvado y luego se devolvía al matraz.

Pasteur completó su estudio con la determinación

semicuantitativa de la distribución de los microorganismos en el aire y la demostración de que estos organismos vivos no están, en absoluto, distribuidos uniformemente por la atmósfera.

Experimentos de Tyndall

Los últimos defensores de la generación espontánea mantuvieron una obstinada acción de retaguardia durante algunos años. El físico inglés John Tyndall, un entusiasta partidario de Pasteur, realizó una serie de experimentos encaminados a refutar las ideas de aquéllos; en el curso de los mismos estableció un hecho importante que Pasteur había pasado por alto, y que en parte explicaba los conflictivos asertos de los defensores de la generación espontánea.

En una larga serie de experimentos con infusiones preparadas con carne y verduras frescas, Tyndall logró una esterilización satisfactoria colocando tubos conteniendo estas infusiones, durante 5 minutos, en un baño de salmuera en ebullición. Sin embargo, cuando llevó a cabo experimentos semejantes con infusiones preparadas con heno seco, este sistema de esterilización resultó completamente inadecuado. Aún peor, cuando luego intentó repetir sus primeros experimentos con otros tipos de infusiones, vió que ya no era posible esterilizarlas por inmersión en salmuera hirviendo, aún teniéndolas allí durante períodos de hasta una hora. Después de hacer muchos experimentos, Tyndall se dio cuenta al fin de lo que sucedía.

El heno seco contenía esporas de bacterias, que eran mucho más resistentes al calor que cualquiera de los microbios con los que había estado tratando anteriormente, y, como resultado de la presencia del heno en su laboratorio, el aire había quedado profusamente infectado con esas esporas. Una vez que hubo aclarado este punto, procedió a probar los límites de resistencia al calor de las esporas de las bacterias del heno y encontró que, incluso después de hervir las infusiones durante cinco horas y media, no había certeza de que quedasen estériles. De estos resultados llegó a la conclusión de que las bacterias tienen fases, una relativamente termolábil (que se destruye por ebullición durante cinco minutos) y una termorresistente hasta extremos increíbles. Estas conclusiones fueron confirmadas casi inmediatamente por un botánico alemán, Ferdinand Cohn, quien demostró que las bacterias del heno pueden producir formas de reposo (*endosporas*) visibles al microscopio, que son altamente resistentes al calor.

Entonces Tyndall procedió a desarrollar un método de esterilización por *calentamiento discontinuo*, llamado más tarde *tindalización*, que podía ser utilizado para matar *todas* las bacterias presentes en las infusiones. Puesto que las bacterias en crecimiento son fácilmente

destruidas mediante un breve calentamiento hasta ebullición, todo lo que se precisa es dejar la infusión en reposo durante un cierto tiempo, antes de aplicar el calor, con el fin de permitir la germinación de las esporas, con la consiguiente pérdida de su resistencia al calor. Se puede utilizar entonces un corto periodo de ebullición y repetirlo varias veces, si es preciso, a distintos intervalos de tiempo hasta conseguir que todas las esporas estén germinadas. Tyndall encontró que el calentamiento discontinuo, hirviendo durante un minuto cinco veces consecutivas, dejaba estéril una infusión, mientras que un calentamiento continuo, a ebullición durante una hora, no lo lograba. El reconocimiento de la tremenda resistencia al calor de las esporas bacterianas fue esencial para el desarrollo de procedimientos adecuados de esterilización.

Se ha afirmado que los trabajos de Pasteur y Tyndall «refutaban» la posibilidad de la generación espontánea y sus resultados experimentales se han utilizado en apoyo del argumento de que la generación espontánea nunca ha ocurrido. Esta es una injustificable extensión de sus descubrimientos. La conclusión que se puede sacar sin riesgo es mucho más limitada, esto es, que en la actualidad los microorganismos no surgen por generación espontánea en infusiones orgánicas adecuadamente esterilizadas. Es probable que el origen primario de la vida sobre la Tierra comprendiera un tipo de generación espontánea aunque fuese mucho más gradual y complicada que la propuesta por los defensores de la doctrina durante los siglos XVIII y XIX.

DESCUBRIMIENTOS DE LA FUNCIÓN DE LOS MICROORGANISMOS EN LAS TRANSFORMACIONES DE LA MATERIA ORGÁNICA

Mientras duró la larga controversia sobre la generación espontánea, se observó con frecuencia una correlación entre el crecimiento de los microorganismos en las infusiones orgánicas y la aparición de cambios químicos en tales infusiones. Estos cambios químicos fueron designados con los nombres de «fermentación» y «putrefacción». La putrefacción, proceso de descomposición que tiene como resultado la formación de productos de mal olor, tiene lugar de forma característica en la carne y es una consecuencia de la degradación de las proteínas, que son los principales constituyentes orgánicos de estos productos naturales. La fermentación, proceso que da como resultado la formación de alcoholes o ácidos orgánicos, tiene lugar de manera característica en los materiales vegetales, como consecuencia de la degradación de los carbohidratos, que son los compuestos orgánicos predominantes en los tejidos vegetales.

La fermentación como proceso biológico

En 1837, tres personas, C. Cagniard-Latour, Th. Schwann y F. Kützing, consideraron independientemente que la levadura que aparece durante la fermentación alcohólica era una planta microscópica y que la conversión de los azúcares en alcohol etílico y dióxido de carbono, característicos de la fermentación alcohólica, era una función fisiológica de la célula de levadura. Esta teoría fue duramente atacada por químicos tan de vanguardia en aquella época como J. J. Berzelius, J. Liebig y F. Wholer, quienes mantenían el punto de vista de que la fermentación y la putrefacción eran procesos puramente químicos. La ciencia química había hecho grandes progresos durante las primeras décadas del siglo XIX y en 1828 se había abierto el amplio campo de la química orgánica sintética con la primera síntesis de un compuesto orgánico, la urea, a partir de materiales inorgánicos. Con la demostración de que los compuestos orgánicos conocidos hasta aquella época exclusivamente como productos de la actividad viviente podían ser fabricados en el laboratorio, los químicos pensaron, con propiedad, que gran cantidad de fenómenos naturales podrían ser, desde entonces, analizados bajo un punto de vista fisicoquímico. La conversión de los azúcares en alcohol y dióxido de carbono parecía ser un proceso químico relativamente sencillo. De acuerdo con ello, los químicos no acogieron con benevolencia el intento de interpretar este proceso como resultado de la actividad de un organismo vivo.

Bastante irónicamente, fue Pasteur, él mismo químico de formación, quien más tarde llegó a convencer al mundo científico de que *todos los procesos fermentativos son resultado de la actividad microbiana*. El trabajo de Pasteur sobre la fermentación se extendió, con pequeñas interrupciones, desde 1857 a 1876. Este trabajo tuvo un origen práctico. Los destiladores de Lille, en donde la fabricación de alcohol a partir de la remolacha constituía una importante industria local, habían tropezado con dificultades y acudieron a Pasteur en busca de ayuda. Pasteur encontró que sus fallos se debían al hecho de que la fermentación alcohólica había sido reemplazada, en parte, por otra clase de proceso fermentativo, que daba como resultado la conversión del azúcar en ácido láctico. Cuando examinó microscópicamente el contenido de las vasijas de fermentación en las que se estaba formando ácido láctico, encontró que las células de levadura características de la fermentación alcohólica habían sido reemplazadas por unos bacilos y esferas mucho más pequeños. Si una pequeña parte de este material se colocaba en una disolución de azúcar con algo de cal, tenía lugar una vigorosa fermentación láctica y se iba formando un depósito grisáceo, en el cual, al ser observado al microscopio, se veía que estaba constituido también por pequeños organismos con forma esférica y bacilar. Sucesivas transferen-

cias de pequeñas cantidades de este material a matraces con el mismo medio fresco daban siempre como resultado la producción de una fermentación láctica y un aumento de los corpúsculos formados. Pasteur arguyó que el agente activo, o nueva «levadura», era un microorganismo que durante su desarrollo convertía específicamente el azúcar en ácido láctico.*

Utilizando métodos semejantes, Pasteur estudió, durante los 20 años siguientes, un número considerable de procesos fermentativos. Logró demostrar que la fermentación iba invariablemente acompañada del desarrollo de microorganismos. Además, demostró que cada tipo químico de fermentación en particular, definido en función de sus principales productos orgánicos finales (por ejemplo la fermentación láctica, alcohólica o butírica), va acompañado del desarrollo de un *tipo específico de microorganismo*. Muchos de estos tipos microbianos específicos podían ser reconocidos y diferenciados microscópicamente por su tamaño y forma característicos. Además podían distinguirse por las condiciones ambientales específicas que favorecían su desarrollo. Para citar un ejemplo de tal *especificidad fisiológica*, Pasteur observó muy pronto que mientras que el agente de fermentación alcohólica puede desarrollarse en un medio ácido, los agentes de la fermentación láctica crecen mejor en un medio neutro. Ésta fue la razón que le llevó a añadir carbonato cálcico al medio de cultivo para los organismos lácticos; esta sustancia hace de agente neutralizante y evita la acidificación demasiado fuerte del medio, que de otra forma tendría lugar como consecuencia de la formación de ácido láctico.

Descubrimiento de la vida anaeróbica

Durante sus estudios sobre la fermentación butírica, Pasteur descubrió otro fenómeno biológico fundamental: *la existencia de formas de vida que solamente pueden vivir en ausencia de oxígeno molecular*. Mientras examinaba al microscopio fluidos que estaban sufriendo una fermentación butírica, Pasteur observó que las bacterias que estaban en el borde de una gota aplastada, en estrecho contacto con el aire, quedaban inmóviles, mientras que las que estaban en el centro de la gota continuaban móviles. Esta observación sugería que el aire tenía un efecto inhibitorio sobre los microorganismos en cuestión, inferencia que Pasteur rápidamente confirmó mostrando que el paso de una corriente de aire a través del fluido en fermentación podía retrasar, y a veces detener

por completo, la fermentación butírica. Pasteur concluyó pues, que algunos microorganismos pueden vivir solamente en ausencia de oxígeno, gas previamente considerado como esencial para el mantenimiento de toda vida. Introdujo los términos *aeróbica* y *anaeróbica* para designar, respectivamente, la vida en presencia y en ausencia de oxígeno.

Importancia fisiológica de la fermentación

El descubrimiento de la naturaleza anaeróbica de la fermentación butírica proporcionó a Pasteur una clave importante para la comprensión del papel que desempeñan las fermentaciones en la vida de los microorganismos que las realizan. El oxígeno molecular o libre es esencial para la mayoría de los organismos como agente para la oxidación de los compuestos orgánicos a dióxido de carbono. Tales oxidaciones biológicas ligadas al oxígeno, conocidas colectivamente como *respiraciones aeróbicas*, proporcionan la energía requerida para la subsistencia y el crecimiento.

Pasteur fue el primero en darse cuenta de que la degradación de los compuestos orgánicos en ausencia de oxígeno puede también ser utilizada por algunos organismos como medio para obtener energía; tal como él dijo, *la fermentación es vida en ausencia de aire*. Algunos microorganismos anaeróbicos estrictos, tales como las bacterias del ácido butírico, dependen de los mecanismos fermentativos para obtener energía. Otros muchos organismos, incluyendo ciertas levaduras, son *anaerobios facultativos* y tienen a su disposición dos mecanismos alternativos que les proporcionan energía. En presencia de oxígeno utilizan la respiración aeróbica, pero pueden emplear la fermentación si no hay oxígeno libre en su medio ambiente. Esto fue maravillosamente explicado por Pasteur, quien mostró que el azúcar es convertido en alcohol y dióxido de carbono por la levadura en ausencia de aire, pero que en presencia de él se forma muy poco o nada de alcohol, siendo el dióxido de carbono el principal producto final de esta reacción aeróbica.

La cuantía del crecimiento que puede tener lugar a expensas de un compuesto orgánico está determinada, en primer lugar, por la cantidad de energía que puede ser obtenida en la degradación de tal compuesto. La fermentación es un proceso menos eficaz que la respiración aeróbica en cuanto a suministro energético, ya que parte de la energía presente en la sustancia descompuesta está todavía presente en los productos orgánicos finales (por ejemplo, el alcohol o el ácido láctico) formados de manera característica en los procesos fermentativos. Tal como Pasteur fue el primero en indicar, la degradación de un determinado peso de azúcar da como resultado un creci-

* Los agentes de la fermentación del ácido láctico, son, de hecho, bacterias, pero en la época de Pasteur todavía no se habían distinguido con claridad los diferentes grupos taxonómicos de microorganismos.

miento de la levadura sustancialmente más pequeño en condiciones anaeróbicas que en condiciones aeróbicas, demostrando así la relativa ineficacia de la fermentación como fuente de energía.

El trabajo de Pasteur mostró que las fermentaciones son «procesos vitales», que desempeñan una función de importancia fisiológica fundamental para la vida de muchas células. El desarrollo posterior de los conocimientos acerca de la naturaleza de la fermentación surgió como resultado de una observación accidental hecha por H. Buchner en 1897. Al intentar conservar un extracto de levadura, preparado moliendo células de levadura con arena, Buchner añadió una gran cantidad de azúcar y quedó sorprendido al observar un desprendimiento de dióxido de carbono acompañado de formación de alcohol. Se había descubierto así una preparación enzimática soluble, capaz de llevar a cabo la fermentación alcohólica. El descubrimiento de Buchner inició el desarrollo de la moderna bioquímica: el análisis detallado del mecanismo de la fermentación alcohólica libre de células sirvió para demostrar que este complejo proceso metabólico puede ser interpretado como resultado de una sucesión de reacciones químicamente inteligibles, cada una de ellas catalizada por un enzima específico. Hoy día la creencia de que incluso los más complejos procesos fisiológicos pueden ser comprendidos de igual forma, en términos fisicoquímicos, está totalmente aceptada por todos los biólogos. En este sentido, la intuición de los químicos del siglo XIX, que lucharon contra la teoría biológica de la fermentación, ha resultado ser correcta.

DESCUBRIMIENTO DE LA FUNCIÓN DE LOS MICROORGANISMOS COMO CAUSANTES DE ENFERMEDADES

Mientras realizaba sus estudios sobre la fermentación, Pasteur, que estaba siempre pendiente de las aplicaciones prácticas de su trabajo científico, prestó considerable atención a las alteraciones de la cerveza y del vino que él había demostrado que estaban producidas por el crecimiento de microorganismos indeseables. Pasteur utilizó un término peculiar y significativo para describir estos procesos de alteración inducidos por microbios; los llamó «enfermedades» del vino y de la cerveza. De hecho, Pasteur estaba ya considerando la posibilidad de que los microorganismos pudiesen actuar como agentes de las enfermedades infecciosas en los animales y plantas. Existía ya un conjunto de pruebas en apoyo de esta hipótesis. En 1813 se había demostrado que ciertos hongos

específicos podían causar enfermedad en el trigo y el centeno y en 1845 M. J. Berkeley había demostrado que la plaga de la patata en Irlanda, una catástrofe natural que influyó profundamente en la historia irlandesa, estaba causada por un hongo. La primera vez que se admitió que un hongo podía estar asociado específicamente a una enfermedad de los animales fue en 1836, gracias a los trabajos de A. Bassi, en Italia, sobre una enfermedad fúngica de los gusanos de seda. Pocos años más tarde, J. L. Schönlein demostró que ciertas enfermedades de la piel humana estaban causadas por infecciones fúngicas. A pesar de estas indicaciones, eran muy pocos los médicos que estaban dispuestos a admitir la idea de que las principales enfermedades infecciosas del hombre podían estar causadas por microorganismos, y todavía eran menos los que creían que organismos tan pequeños y aparentemente tan sencillos como las bacterias, pudiesen actuar como agentes productores de enfermedades.

Antisepsia quirúrgica

La introducción de la anestesia, hacia 1840, había hecho posible el rápido desarrollo de los métodos quirúrgicos. La rapidez ya no era el problema de mayor importancia y al cirujano le era posible realizar operaciones de una duración y complejidad que anteriormente ni se hubiera podido pensar. Sin embargo, con el perfeccionamiento de la técnica quirúrgica, un problema que siempre había existido se hizo cada vez más serio: la *sepsia quirúrgica*, es decir, las infecciones que seguían a la intervención quirúrgica y que con frecuencia causaban la muerte del paciente. Los estudios de Pasteur sobre el problema de la generación espontánea habían demostrado la presencia de microorganismos en el aire, e indicado al mismo tiempo diversos caminos por los cuales podía evitarse el acceso y el desarrollo de los mismos en las infusiones orgánicas. Un joven cirujano británico, Joseph Lister, que estaba profundamente impresionado por el trabajo de Pasteur, pensó que la sepsia quirúrgica podía ser el resultado de la infección microbiana de los tejidos humanos expuestos al aire durante la operación. Decidió desarrollar métodos para evitar el acceso de los microorganismos a las heridas quirúrgicas. Mediante una escrupulosa esterilización de los instrumentos quirúrgicos, el uso de vendajes desinfectantes y ejecución de la operación bajo la pulverización de un desinfectante para evitar las contaminaciones procedentes del aire, logró reducir en gran parte la incidencia de la sepsia quirúrgica. Los procedimientos de cirugía antiséptica de Lister, desarrollados hacia 1864, fueron recibidos inicialmente con profundo escepticismo, pero, a medida que sus notables éxitos contra las sepsias quirúrgicas se fueron conociendo,

do, se fueron incorporando gradualmente a la práctica común. Este trabajo proporcionó una poderosa prueba *indirecta* de la teoría de que las enfermedades eran producidas por gérmenes, aun cuando no dio ninguna luz sobre el posible origen microbiano de enfermedades específicas del hombre. Tal como ocurrió, medio siglo antes, en el caso del sistema de envasado de Appert como medio de conservación de los alimentos, sucedió con la introducción de antisépticos quirúrgicos por Lister: la práctica fue por delante de la teoría.

Etiología bacteriana del carbunco

El descubrimiento de que las bacterias pueden actuar como agentes específicos de las enfermedades infecciosas en los animales fue realizado a través del estudio del carbunco, infección grave de los animales domésticos que es transmisible al hombre. En los estadios finales de una infección generalizada de carbunco, las bacterias de forma bacilar, responsables de la enfermedad, aparecen en cantidades enormes en el torrente circulatorio. Estos seres ya fueron observados por primera vez en 1850 y su presencia en la sangre de animales infectados fue puesta de manifiesto por una serie de investigadores a lo largo de los quince años siguientes. Particularmente cuidadosos y detallados fueron los estudios realizados entre 1863 y 1868 por C. J. Davaine, quien demostró que los bacilos están invariablemente presentes en los animales enfermos pero que no puedan ser detectados en los sanos y que la enfermedad puede ser transmitida a los animales sanos mediante la inoculación de sangre que contenga estos elementos en forma de bastón.

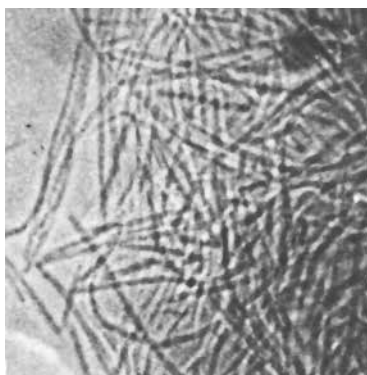


FIGURA 1.5
Robert Koch (1843-1910). Cortesía de VEB George Thieme, Leipzig.

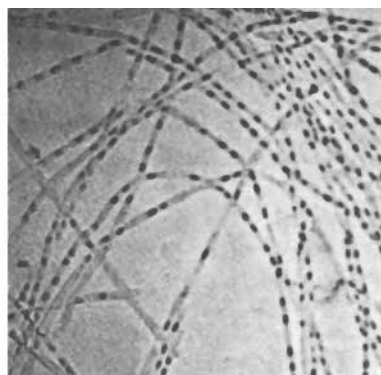
La demostración concluyente de la causa bacteriana o *etiología* del carbunco la proporcionó, en 1876, Robert Koch (figura 1.5), un médico rural alemán. Koch no tenía laboratorio y los experimentos los realizaba en su casa, utilizando un equipo improvisado muy primitivo y pequeños animales de experimentación. Demostró que los ratones podían ser infectados con material procedente de un animal doméstico enfermo. Transmitió la enfermedad a una serie de 20 ratones, mediante inoculación sucesiva; después de cada transferencia se observaban los síntomas característicos. Luego procedió a cultivar la bacteria causante introduciendo diminutas, pero intensamente infectadas, partículas de bazo de animales enfermos, en gotas de suero estéril. Observando hora tras hora el crecimiento de los organismos en este medio de cultivo, vio que los bacilos se convertían en largos filamentos, dentro de los cuales iban apareciendo unos cuerpos ovalados y refringentes. Demostró que estos cuerpos eran esporas, que no habían sido vistas por los investigadores que le precedieron (figura 1.6). Cuando el

FIGURA 1.6

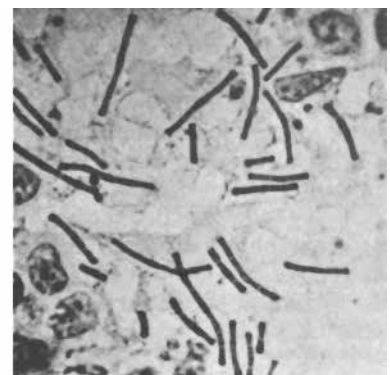
Las primeras microfotografías de bacterias, tomadas por Robert Koch en 1877. (a) Cadenas de células de *Bacillus anthracis* sin teñir. (b) Cadenas de *B. anthracis* sin teñir; las células contienen esporas refringentes. (c) Un frotis teñido de *B. anthracis* procedente del bazo de un animal infectado. Obsérvese la forma alargada de los bacilos y las células más grandes de los tejidos.



(a)



(b)



(c)

material que contenía esporas se pasaba a una gota de suero fresco estéril, las esporas germinaban dando origen nuevamente a los típicos bacilos. De esta manera, transfirió cultivos de la bacteria ocho veces sucesivas. El cultivo final de esta serie, inyectado a un animal sano, producía de nuevo la enfermedad característica, y a partir de este animal se podían aislar otra vez los organismos de cultivo.

Esta serie de experimentos se ajustaba a los criterios que treinta y seis años antes había formulado J. Henle, como lógicamente necesarios para poder establecer la relación causal entre un organismo específico y una enfermedad específica. En términos generales estos criterios son: (1) el microorganismo debe estar presente en todos los casos de la enfermedad; (2) el microorganismo debe ser aislado del hospedador enfermo y obtenerse en cultivo puro; (3) la enfermedad específica debe reproducirse cuando un cultivo puro del microorganismo se inocula a un hospedador susceptible sano, y (4) el microorganismo debe ser recuperable de nuevo a partir del hospedador inyectado experimentalmente. Como Koch fue el primero en aplicar experimentalmente estos criterios, se conocen ahora como *postulados de Koch*.

Koch realizó otra serie de experimentos que demostraron la *especificidad biológica* de los agentes de las enfermedades. Demostró que otra bacteria formadora de esporas, el bacilo del heno, no produce el carbunco después de haber sido inyectada, y diferenció también la bacteria productora del carbunco de otras bacterias que causan otras infecciones. De estos estudios llegó a la conclusión de que sólo una clase de bacilo es capaz de producir este proceso específico de enfermedad, mientras que otras bacterias, o bien no producen ninguna enfermedad después de ser inoculadas, o bien dan origen a otros tipos de enfermedades.

En el transcurso de este tiempo, Pasteur había encontrado un colaborador, J. Joubert, que conocía los problemas médicos. Sin tener noticia de los trabajos de Koch, Pasteur y Joubert emprendieron el estudio del carbunco. No añadieron nada realmente nuevo a las conclusiones a las que había llegado Koch, pero confirmaron su trabajo y proporcionaron demostraciones adicionales acerca de que aquel bacilo y no otro agente cualquiera, era la causa específica de la enfermedad.

Nacimiento de la bacteriología médica

Este trabajo sobre el carbunco condujo rápidamente a la edad de oro de la bacteriología, durante la cual institutos recién establecidos creados en París y en Berlín, por Pasteur y Koch, respectivamente, se convirtieron en los centros mundiales de la ciencia bacteriológica. La escuela alemana, dirigida por Koch, se concentró principalmente en el aislamiento, cultivo y caracterización de

los agentes causantes de las principales enfermedades infecciosas del hombre. La escuela francesa, bajo la dirección de Pasteur, se encaminó casi inmediatamente hacia un problema más sutil y complejo: el análisis experimental de cómo tiene lugar en el cuerpo del animal la enfermedad infecciosa y cómo se realiza la curación y se adquiere inmunidad. En veinticinco años, la mayoría de los agentes bacterianos de las principales enfermedades humanas habían sido descubiertos y descritos y se habían desarrollado métodos encaminados a evitar muchas de estas enfermedades, tanto mediante la inmunización artificial como por la aplicación de medidas higiénicas. Fue, con gran diferencia, la mayor revolución médica de toda la historia de la humanidad.

Descubrimiento de los virus

Una de las primeras contribuciones técnicas aportadas por el nuevo instituto de Pasteur fue el desarrollo de filtros capaces de retener las células bacterianas, proporcionando así filtrados libres de bacterias. Con frecuencia, para detectar la presencia de bacterias productoras de enfermedades, los fluidos infecciosos se ensayaban pasándolos a través de estos filtros; si el filtrado ya no era capaz de producir la infección, esto indicaba la presencia de un agente bacteriano en el fluido original. En 1892 un científico ruso, D. Iwanowsky, aplicó esta prueba utilizando un extracto de plantas de tabaco infectadas con la enfermedad llamada mosaico. Encontró, con sorpresa, que el filtrado era totalmente infeccioso cuando se aplicaba a plantas sanas. Su descubrimiento fue pronto confirmado y, en unos pocos años más, otros investigadores encontraron que muchas de las principales enfermedades de vegetales y animales estaban producidas por agentes submicroscópicos semejantes, que pasaban a través de los filtros. Así se descubrió toda una clase de entidades infecciosas, mucho más pequeñas que los organismos previamente conocidos. La verdadera naturaleza de estos *virus*, como luego se los llamó, permaneció oscura durante varias décadas, pero quedó establecido que son un grupo distinto de objetos biológicos, totalmente diferentes de los organismos celulares en cuanto a su estructura y forma de desarrollo (véase el capítulo 9).

DESARROLLO DE MÉTODOS DE CULTIVO PURO

Pasteur poseía una gran capacidad intuitiva para el manejo de los microorganismos y logró llegar a conclusiones correctas acerca de la especificidad de los proce-

son fermentativos, aun trabajando con cultivos que contenían una mezcla de formas microbianas. Los estudios clásicos de Koch y Pasteur sobre el carbunco, que establecieron con base firme la teoría microbiana de las enfermedades de los animales, fueron realizados bajo condiciones experimentales que realmente no permitían tener certeza de que se habían obtenido cultivos puros de los organismos causantes. Cuando se trabaja con poblaciones microbianas mixtas, pueden cometerse errores, y no todos los científicos que iniciaban el estudio de los microorganismos a mediados del siglo XIX eran tan hábidosos como Pasteur y Koch. Con frecuencia se mantenía que los microorganismos tenían una gran capacidad de variación, tanto respecto a su *aspecto morfológico* como a su *función fisiológica*. Esta creencia se dio a conocer como doctrina del *pleomorfismo*, mientras que la creencia contraria, relativa a que los microorganismos presentan una constancia y especificidad de forma y función, se dio a conocer como doctrina del *monomorfismo*.

Origen de la creencia en el pleomorfismo

Consideremos qué sucede cuando una disolución nutritiva se inocula con una población microbiana mixta. El principio de la selección natural empieza a operar inmediatamente y en seguida predomina el microbio que puede crecer más rápidamente bajo las condiciones establecidas. Como resultado de su crecimiento y actividades químicas, la composición del medio cambia y, después de un cierto tiempo, las condiciones ya no permiten el desarrollo de la forma originalmente predominante. El medio ambiente puede ser ahora favorable para el crecimiento de una segunda clase de microorganismos, también introducida desde el principio en el medio pero incapaz de desarrollarse hasta ese momento, la cual va reemplazando gradualmente a la primera como forma predominante en el cultivo. De este modo se puede obtener el *desarrollo sucesivo de muchos tipos microbianos diferentes* en un solo matraz de cultivo sembrado con una población mixta. Con frecuencia es posible mantener el predominio de la primera forma que se desarrolla, bastando para ello la transferencia repetida de la población mixta a otro medio fresco de la misma composición, a intervalos de tiempo cortos. Éste fue en esencia el artificio utilizado por Pasteur en sus estudios sobre la fermentación.

Si no se admite la posibilidad de las sucesiones microbianas, resulta fácil llegar a la conclusión de que los cambios químicos y morfológicos, observables a lo largo del tiempo en un mismo cultivo inoculado con una población mixta, reflejan *transformaciones sufridas por una sola clase de microorganismos*. Entre 1865 y 1885 se hicieron con frecuencia afirmaciones relativas a la ex-

trema variabilidad de los microorganismos basadas en tales observaciones.

El término *pleomorfismo* (derivado del griego y que significa «doctrina de las formas múltiples») implica que sus adeptos se referían principalmente a las posibilidades de la variación morfológica. De hecho, con frecuencia no era éste el caso. Muchos pleomorfistas insistían igualmente en la variabilidad de la función. Para ellos no existían cosas como un agente microbiano específico para la fermentación alcohólica o para una determinada enfermedad; consideraban que es la naturaleza del medio ambiente la que determina tanto la forma como la función. La persistente difusión de tales creencias representó un serio obstáculo para el completo desarrollo de la microbiología y encontraron oposición en los que iban a la cabeza de esta nueva disciplina, tales como Pasteur, Koch y Cohn, quienes mantenían la doctrina del monomorfismo, insistiendo en la constancia de la forma microbiana (y de la función).

Hacia 1870 se empezó a pensar que solamente podría tenerse una idea clara acerca de la forma y función de los microorganismos si las complicaciones inherentes al estudio de las poblaciones microbianas mixtas pudiesen evitarse mediante el uso de cultivos puros. *Un cultivo puro es aquel que contiene una sola clase de microorganismos*. Los principales defensores del uso de cultivos puros fueron dos grandes micólogos: A. de Bary y O. Brefeld,

Primeros cultivos puros

Gran parte del trabajo inicial sobre las técnicas para la obtención de cultivos puros fue realizado por Brefeld, trabajando con hongos. Introdujo la práctica de aislar células, así como la del cultivo de los hongos sobre medios sólidos, para lo cual añadía gelatina a sus cultivos líquidos. Sus métodos de obtención de cultivos puros funcionaban admirablemente para los hongos, pero no resultaban adecuados cuando se aplicaban a las bacterias, que eran más pequeñas. Había que idear pues otros métodos para las bacterias. Uno de los primeros que se propusieron fue el *método de las diluciones*. Un fluido que contenía una mezcla de bacterias se diluía en medio estéril, con la esperanza de que en último término podría lograrse un crecimiento que tuviera su origen en una sola célula. En la práctica este método es tedioso, difícil e incierto; tiene además la evidente desventaja de que, en el mejor de los casos, sólo se puede aislar en forma pura el microorganismo que predomina en la mezcla original.

Koch se dio cuenta en seguida de que el desarrollo de métodos sencillos para la obtención de cultivos puros de bacterias era esencial para el desarrollo de la nueva ciencia. El método de las diluciones era obviamente demasiado tedioso e inseguro para ser utilizado de forma ruti-

na. Una manera más prometedora de abordar el problema había sido ya sugerida en las primeras observaciones de J. Schroeter, quien había encontrado que sobre substratos sólidos, tales como patata, pasta de almidón, pan y albúmina de huevo, se formaban desarrollos aislados de bacterias, o *colonias*. Las colonias se diferenciaban unas de otras, pero dentro de cada una de ellas todas las bacterias eran de un mismo tipo. Al principio Koch realizó experimentos utilizando superficies estériles de patatas cortadas, que colocaba en vasijas estériles cubiertas con un vidrio y luego las inoculaba con bacterias. Sin embargo, las patatas tienen claras desventajas; la superficie del corte está húmeda, lo que permite a las bacterias móviles desplazarse libremente sobre ella; el substrato es opaco y, por ello a veces resulta difícil ver las colonias; y, lo que es más importante de todo, la patata no es un buen medio nutritivo para muchas bacterias.

Koch concibió la idea de que sería mucho mejor si se pudiese solidificar un medio líquido bien conocido, añadiendo alguna sustancia transparente. De esta manera podría prepararse un gel translúcido sobre el cual serían fácilmente visibles las colonias bacterianas que se desarrollasen. Al mismo tiempo, modificando la composición del líquido base, podrían atenderse los diversos requerimientos de nutrición de las diferentes bacterias. Con esta idea presente, añadió gelatina como agente endurecedor. Una vez solidificada, la superficie de la gelatina se sembraba tomando una minúscula cantidad de células bacterianas (el *inóculo*) con una aguja de platino, previamente esterilizada pasándola por una llama y deslizándola varias veces, rápida y suavemente sobre la superficie del gel. Pronto aparecían diferentes colonias bacterianas, cada una de las cuales podía ser purificada repitiendo este proceso de siembra, que se dio a conocer como *método de siembra por estria* para el aislamiento de bacterias. Los cultivos puros eran luego transferidos a tubos de ensayo, que contenían gelatina nutritiva estéril, los cuales habían sido taponados con algodón estéril y se solidificaban en posición inclinada. Tales cultivos se denominaron *cultivos en tubo inclinado*. Poco después, Koch descubrió que en lugar de sembrar las bacterias sobre la superficie de la gelatina ya solidificada, podía mezclarlas con la gelatina fundida. Cuando la gelatina se solidificaba, las bacterias quedaban inmovilizadas dentro del gel y allí se desarrollaban dando colonias aisladas. Esto se dio a conocer como *método de vertido en placa* para el aislamiento de bacterias.

La gelatina, el primer agente solidificante utilizado por Koch, tiene varios inconvenientes. Es una proteína altamente susceptible a la digestión y fluidificación por las bacterias. Además cambia de gel a líquido a temperaturas por encima de 28°C. Pronto fue introducido un nuevo agente solidificante, el *agar*. El agar es un polisacárido complejo que se extrae de las algas rojas. Para

fundir un gel de agar se requiere una temperatura de 100°C, por lo que permanece sólido a lo largo de toda la escala de temperaturas a que se cultivan las bacterias. Sin embargo, una vez fundido, permanece líquido hasta que la temperatura baja a 44°C aproximadamente, hecho que hace posible su uso para la preparación de cultivos por el método de vertido en placa. Forma un gel espeso y transparente. Finalmente, es un carbohidrato complejo que es atacado por muy pocas bacterias, por lo que el problema de su fluidificación se presenta muy raras veces. Por estas razones, el agar substituyó rápidamente a la gelatina como agente endurecedor de preferencia para los estudios bacteriológicos. Aunque aún no se ha descubierto ningún sustituto sintético del agar que sea igualmente satisfactorio, se ha visto que algunos polisacáridos bacterianos tienen propiedades que prometen.

Desarrollo de los medios de cultivo por Koch y su escuela

Pasteur había utilizado medios líquidos sencillos y transparentes, de composición química conocida, para el cultivo selectivo de los microorganismos fermentadores. Para el aislamiento de los agentes microbianos productores de enfermedades, se necesitaban diferentes tipos de medios de cultivo y éste fue el segundo gran problema técnico al que Koch y sus colaboradores dedicaron su atención. Dado que las bacterias productoras de enfermedades se desarrollan normalmente dentro de los tejidos de un hospedador infectado, parecía lógico pensar que su cultivo fuera del cuerpo del animal había de tener más éxito si el medio utilizado se parecía lo más posible al que rodea a los tejidos del hospedador. Esta forma de razonar condujo a Koch a adoptar las *infusiones de carne* y los *extractos de carne* como ingredientes básicos de sus medios de cultivo. El *caldo nutritivo* y su correspondiente medio sólido, el *agar nutritivo*, que todavía son los medios más utilizados en el trabajo común de bacteriología, fueron el resultado de los experimentos de Koch en este sentido. El caldo nutritivo contiene 0,5% de peptona, que es un digerido enzimático de carne; 0,3% de extracto de carne, un concentrado de los componentes hidrosolubles de la carne, y 0,8% de NaCl para proporcionar aproximadamente la misma concentración salina que existe en los tejidos. Para el cultivo de los organismos productores de enfermedades, que generalmente son más exigentes, puede suplementarse este medio base de varias maneras (por ejemplo, con azúcar, con sangre o con suero). Teniendo en cuenta los fines específicos para los cuales fueron ideados estos medios, puede considerarse la elección de los ingredientes como lógica, aunque no hay pruebas de que la tradicional inclusión del NaCl tenga ningún valor real, ya que la ma-

oría de las bacterias son insensibles en su medio ambiente a los cambios de concentración salina, dentro de un amplio margen. A medida que fue pasando el tiempo, muchos bacteriólogos pensaron que estos medios eran universales, aptos para el cultivo de casi todas las bacterias. Esto no es cierto; las bacterias varían enormemente en cuanto a sus requerimientos alimenticios y no existe ningún medio capaz de permitir el crecimiento de más que una pequeña fracción de las bacterias que existen en la naturaleza (véase el capítulo 2).

LOS MICROORGANISMOS COMO AGENTES GEOQUÍMICOS

Aunque el estudio del papel desempeñado por los microorganismos como agentes de enfermedades infecciosas se convirtió en el objetivo central del interés microbiológico a lo largo de las últimas décadas del siglo XIX, algunos científicos continuaron el trabajo, iniciado por Pasteur en sus primeras investigaciones, sobre la función específica de los microorganismos en la fermentación. Este trabajo había demostrado claramente que los microorganismos pueden servir de agentes específicos para transformaciones químicas en gran escala, e indicaba que el mundo microbiano en conjunto podría ser el responsable de una gran variedad de otros cambios geoquímicos.

Establecer el papel fundamental que los microorganismos desempeñan en los ciclos biológicamente importantes de la materia sobre la Tierra —los ciclos del carbono, nitrógeno y azufre— fue en gran parte el trabajo de dos personas, S. Winogradsky (figura 1.7) y M. W. Beijerinck (figura 1.8). A diferencia de los vegetales y los animales, los microorganismos presentan una extraordinariamente amplia gama de diversidad fisiológica. Muchos grupos están especializados en la realización de



FIGURA 1.7
Serge Winogradsky (1856-1953). Cortesía de Masson et Cie., París. Reproducido con autorización de *Annales de l'Institut Pasteur*.

transformaciones químicas que no pueden llevar a cabo en absoluto ni las plantas ni los animales, y por ello desempeñan un papel vital en el recambio de la materia sobre la Tierra.

Un ejemplo de especialización fisiológica microbiana lo proporcionan las *bacterias quimioautotróficas*, descubiertas por Winogradsky. Estas bacterias pueden crecer en medios completamente inorgánicos, obteniendo la energía necesaria para su crecimiento por oxidación de compuestos inorgánicos reducidos y aprovechamien-



FIGURA 1.8
Martinus Willem Beijerinck (1851-1931). Cortesía de Martinus Nijhoff, La Haya. Reproducido con autorización.

to del dióxido de carbono como fuente para su carbono celular. Winogradsky encontró que entre las bacterias autotróficas, existen varios grupos fisiológicos distintos, cada uno de ellos caracterizado por su capacidad para utilizar una determinada fuente de energía inorgánica. Por ejemplo, las bacterias del azufre oxidan compuestos inorgánicos de este elemento, las bacterias nitrificantes, lo hacen con compuestos inorgánicos de nitrógeno.

Otro descubrimiento, al que contribuyeron también Winogradsky y Beijerinck, fue el del papel que desempeñan los microorganismos en la fijación del nitrógeno atmosférico, el cual no puede ser utilizado como fuente de nitrógeno por la mayoría de los organismos vivientes. Demostraron que ciertas bacterias, algunas de ellas sim-

bióticas de plantas y otras de vida independiente, pueden utilizar el nitrógeno gaseoso para la síntesis de sus constituyentes celulares. Estos microorganismos, en consecuencia, ayudan a mantener el aporte de nitrógeno combinado, del cual dependen todas las otras formas de vida.

Métodos de cultivo de enriquecimiento

Para el aislamiento y el estudio de los diversos tipos fisiológicos de microorganismos que existen en la naturaleza, Winogradsky y Beijerinck desarrollaron una técnica nueva y muy importante, la técnica del *cultivo de enriquecimiento*. Es, en esencia, una aplicación a microescala del principio de la selección natural. El investigador idea un medio de cultivo de composición química determinada, lo inocula con una población microbiana mixta, tal como la que puede encontrarse en una pequeña porción de suelo, y luego observa qué clase de microorganismos adquieren el predominio, ocasionado por su capacidad para crecer más rápidamente que cualquiera de los otros organismos presentes en el inóculo y de ahí la denominación de *medio de enriquecimiento*. Tomando un ejemplo concreto, si queremos descubrir microorganismos que pueden usar nitrógeno atmosférico, N_2 , como única fuente del elemento nitrógeno, preparamos un medio que esté *libre de nitrógeno* combinado, pero que tenga todos los demás nutrientes —una fuente de energía, una fuente de carbono, sales minerales— necesarios para el crecimiento. Este medio se inocula luego con suelo, se pone en contacto con N_2 y se incuba bajo el conjunto de condiciones físicas deseadas. Como el nitrógeno es un constituyente esencial de todas las células vivas, los únicos organismos, de todos aquellos presentes en el inóculo original, que serán capaces de multiplicarse en este medio serán los que puedan fijar nitrógeno atmosférico. Siempre que estos tipos de organismos estén presentes en el inóculo, se desarrollarán. Este tipo de experimentos puede variarse de innumerables maneras modificando factores tales como la fuente de carbono, el aporte de energía, la temperatura y la concentración de iones hidrógeno. Para cada conjunto de condiciones en particular habrá una clase de organismos predominante, siempre que en el inóculo existan organismos que puedan desarrollarse bajo estas condiciones. El método de cultivo de enriquecimiento es pues uno de los más poderosos instrumentos experimentales de que dispone el microbiólogo; mediante su utilización puede aislar microorganismos con cualquier conjunto de requerimientos alimenticios, con tal de que tales organismos existan en la naturaleza.

DESARROLLO DE LA MICROBIOLOGÍA EN EL SIGLO XX

Durante las últimas décadas del siglo XIX, la microbiología se convirtió en una disciplina sólidamente establecida con un conjunto distintivo de conceptos y de técnicas, frutos en gran medida del trabajo de Pasteur. Durante el mismo período emergió también la ciencia de la biología general. Ésta fue creación de Charles Darwin, quien impuso un nuevo orden y coherencia a lo que hasta entonces habían sido materiales anecdóticos de la historia natural, y lo hizo interpretándolos bajo el punto de vista de la evolución por selección natural. Lógicamente, la microbiología debería tener su puesto junto a otras disciplinas biológicas especializadas, dentro del marco de la biología general postdarwiniana. De hecho, sin embargo, esto no ocurrió así. Durante medio siglo después de la muerte de Pasteur en 1895, la microbiología y la biología general se fueron desarrollando con completa independencia. Los principales intereses de la microbiología en este período eran la caracterización de agentes de enfermedades infecciosas, el estudio de la inmunidad y de sus funciones en la prevención y curación de las enfermedades, la búsqueda de agentes quimioterapéuticos y el análisis de las actividades químicas de los microorganismos. Todos estos problemas estaban tanto conceptual como experimentalmente alejados de los intereses dominantes de la biología a principios del siglo XX, los cuales eran la organización de la célula y su función en la reproducción y el desarrollo, y los mecanismos de la herencia y la evolución en vegetales y animales. Incluso las innovaciones técnicas distintivas y originales de la microbiología resultaron poco interesantes para sus contemporáneos biólogos; su valor no fue ampliamente reconocido hasta 1950, en el que el cultivo de tejidos y el cultivo celular empezaron a aplicarse de manera extensiva a los tejidos vegetales y animales.

Sin embargo, la microbiología contribuyó de forma significativa al desarrollo de una nueva disciplina, la bioquímica. El descubrimiento hecho por Buchner (véase la página 8) de la fermentación alcohólica en ausencia de células, proporcionó la clave para el análisis químico de los procesos metabólicos que producen energía. En las dos primeras décadas del siglo XX, estudios paralelos sobre los mecanismos de la glicolisis por el músculo y de la fermentación alcohólica por la levadura, revelaron gradualmente su fundamental semejanza. De manera inesperada, los fisiólogos de vertebrados y los bioquímicos microbianos habían encontrado una base común. Unos pocos años más tarde, el análisis de la nutrición