

UTILIZACION DEL AZOE DEL AIRE POR LAS PLANTAS

POR

TOMÁS JAMIESON

Director de la estación de investigaciones agrícolas en Aberdeen (Escocia)

NEGACIÓN DE LA TEORÍA DE LOS TUBÉRCULOS LEGUMINOSOS

I

Trabajos como el que insertamos no deben quedar ignorados.

Al traducirlo no nos lleva otro propósito que contribuir á su divulgación dado el provecho que de él puede sacar la práctica agrícola una vez confirmados sus hechos.

Después de los estudios y experiencias de Hellriegel en colaboración con Wilfarth sobre los tubérculos de las leguminosas, fué implantada en la opinión pública la teoría propuesta por estos autores, de que la asimilación del ázoe del aire era debido á la acción simbiótica ejercida por bacterios con las plantas de esta familia.

Desde la fecha de la publicación de los trabajos clásicos de estos sabios (1890), muchas é importantes investigaciones se han llevado á cabo con respecto á esta cuestión, entre los cuales podemos citar las de varios autores tales como Lawes y Gilbert, Richter, Petermam, Franck, Schloesing (hijo), Laurent y otros.

La presente traducción, sacada de los «Annales de la Sciencia Agronomique» de L. Grandeau y que aparecerá en dos números de nuestra Revista, es una de las investigaciones ultimamente efectuadas por Mr. Tomás Jamieson, director de la estación de investigaciones agrícolas en Aberdeen, (Escocia) que encara después de largos años de pa-

cientes trabajos, bajo un nuevo aspecto la cuestión de la utilización (absorción y fijación) del ázoe por las plantas.

Como se verá, su autor niega en absoluto la teoría de los tubérculos de las leguminosas fundado en observaciones, experiencias y largos estudios, llevados sobre numerosas plantas pertenecientes á varias familias.

No dudamos que, dada la importancia del asunto y sobre todo por tratarse de una nueva teoría, dará lugar á nuevos estudios é investigaciones por parte de sabios y estudiosos que siempre serán de utilidad para la industria madre de todos los países.

ALEJANDRO BOTTO.

(Profesor de la Universidad de La Plata)

«Los agricultores gastan anualmente sumas considerables en la compra de *ázo*e (bajo las formas de sulfato de amoníaco, de nitrato de soda y de abonos orgánicos), porque se ha comprobado que se aumenta así con creces las cosechas, especialmente las de los cereales y praderas. Estos resultados de la práctica han sido confirmados por numerosas experiencias científicas.

Sin embargo, el aire contiene una cantidad de ázoe, en realidad inagotable. Por consiguiente, si el ázoe del aire pudiera ser utilizado por las plantas, resultaría una inmensa economía para la práctica agrícola (1).

No hay otro tema que tenga tanta importancia para la práctica agrícola, ni de más grande interés para la ciencia agronómica que la cuestión del ázoe. Ha llamado más la atención y ha sido motivo de más investigaciones, sin duda, que cualquier otro tema durante el período entero en el cual la ciencia se ha ocupado de la agricultura. Se puede decir que este período comenzó en el año 1804, cuando Th de

(1) Las importaciones de la Gran Bretaña, en solo abonos azoados, se elevan á 62.500.000 francos por año.

Saussure, ilustre químico ginebrino, publicó sus *Recherches chimiques sur la végétation*. Pero, en lo que se relaciona con la cuestión del ázoe, hay aún que remontarse más lejos, pues, en 1771, el químico inglés, Priestley (que descubrió el oxígeno), afirmó que ciertas plantas absorben el ázoe del aire; é Ingenhouss amplió esta doctrina afirmando que todas las plantas tienen esta facultad.

Los métodos de que se disponían en aquella época no eran lo bastante perfeccionado para que nosotros podamos admitir estas conclusiones como exactas. Es un hecho notable, con todo, que después de haber encontrado numerosas contradicciones, después de haber sido muchas veces modificadas, después de haber dado lugar á estudios profundizados por parte de sabios eminentes y haber sido suplantadas en la opinión pública por la doctrina opuesta, ellas vuelven hoy en su favor, y nosotros nos encontramos nuevamente en el mismo punto que hace ciento veinticinco años.

Es una cosa singular, y que merece ser meditada por los hombres investidos de los poderes públicos, que el estudio de esta importante cuestión haya sido abandonada á particulares trabajando aisladamente, cada uno en su pista; si se hubiera descubierto la verdad, se tendría por resultado un crecimiento incalculable de prosperidad para la principal industria de todos los países. Un sabio autor ha dicho con razón que «es debido á los esfuerzos individuales, en suma, que todos los progresos científicos han sido pues realizados»; pocas veces secundan estos estudios las sociedades y los gobiernos. Pero los esfuerzos individuales, por otra parte, chocan con numerosas dificultades, deplorables por cierto bajo el punto de vista nacional.

Es tal la importancia de este tema que, para recordar las principales investigaciones relativas á la fijación posible del ázoe por las plantas, es necesario traer á la memoria toda la historia de la ciencia agrícola.

En 1804, de Saussure afirma que las plantas no absorben el ázoe. Woodhouse y Senebier confirman estas conclusiones. En 1812, Sir Humphry Davy contribuye en mucho, por sus conferencias y sus trabajos científicos, á fomentar las aplicaciones de la ciencia á la agricultura, pero no aporta ningún dato nuevo á la cuestión de la fijación del ázoe. En 1838, Boussingault, eminente químico francés, acepta las conclusiones de Saussure.

Después viene en 1840, Liebig, que ha hecho más por la ciencia agrícola que todos los otros químicos; pero él no hizo tampoco avanzar la cuestión de la absorción del ázoe del aire, dando paso no obstante á la opinión de Saussure, declarando que «nosotros no tenemos la más mínima razón para pensar que el ázoe de la atmósfera juega un rol en el fenómeno de asimilación por la planta». Desde entonces la inaptitud de las plantas para utilizar el ázoe contenido en el aire fué una doctrina aceptada, basada en las conclusiones de Saussure y de Boussingault.

Ciertamente, esta doctrina fué negada por G. Ville, en 1849, y también (aunque en menos grado), por Mène y Roy. G. Ville afirma que las plantas absorben el ázoe del aire, sosteniendo de manera tan enérgica esta opinión que la Academia de Ciencias encargó á una comisión la tarea de verificar sus experiencias.

Los resultados confirmaron las conclusiones de G. Ville, pero algún tiempo después de esta verificación, se supo que las experiencias habían sido viciadas por un error, y la teoría de Georges Ville, perdió todo crédito. Ella fué completamente abandonada hasta 1851, en que Boussingault repitió sus experiencias rodeándose de todas las precauciones y precisión posibles, llegando á confirmar exactamente sus precedentes resultados. Algunos años más tarde Mr. Lawes, en colaboración con Gilbert y Pugh, repite las experiencias de Boussingault y encuentra como él que las plantas no absorben el ázoe del aire; la cuestión fué considerada como

definitivamente resuelta: se admitió que las plantas no podían fijar el ázoe libre del aire, se hace pública y á la vez sirvió de punto de partida para otros estudios.

Está demostrado hoy que esta conclusión estaba basada, en todos los casos, en plantas muy pequeñas y despreciables, cultivadas en condiciones tan poco conformes á la naturaleza, que no podían adquirir vigor y no desarrollaban, por consiguiente, todas las facultades vitales. Hoy se sabe que la planta en su primera edad debe adquirir un cierto vigor antes de poder desarrollar el sistema que le permite absorber el ázoe inerte. Los químicos, y soy yo del número, deben ser casi recusados en esta cuestión. Es necesario reconocer, en efecto, que nosotros no hemos obtenido sino resultados *negativos*, que son siempre menos probantes que los resultados positivos. Cuando se encuentra alguna cosa, se tiene una certitud; cuando no se encuentra nada, si se quiere deducir que no hay nada, por la razón que si había alguna cosa se le hubiera encontrado, no se hace sino un silogismo, y, para apreciar si el es fundado, es necesario examinar si las condiciones de experiencia y los métodos aplicados eran satisfactorios.

En el caso que nos ocupa, no hay dudas en lo que concierne á los métodos; estos no dejaban nada que desear al punto de vista químico. Los cuidados con los cuales fueron efectuadas las experiencias, y las precauciones tomadas para evitar todo error, explican quizá el por qué no se pudo constatar el fenómeno que se produce en condiciones naturales. Lo que ha falseado los resultados, son las condiciones en las cuales se operaba, y que no estaban conformes á la naturaleza; estas no podían producir plantas vigorosas, y todo lo que nosotros podemos decir, para explicar como no aceptamos estas conclusiones, es que no había sido llamada la atención sobre este punto, ni aún mismo sospechado en general.

Aunque la opinión fué generalmente admitida que las

plantas no podían absorber el ázoe del aire, los hechos de la práctica agrícola parecen contradecirla, por lo menos en el caso de ciertas plantas, pues se constató, en Inglaterra y en otras partes, que los cereales (plantas que necesitan ázoe), se desarrollaban mucho mejor después de las leguminosas que siguiendo en la rotación á cualquiera otra planta cultivada. En Alemania, Schultz (de Lupitz), constata que un suelo de pastos pobres que no habia recibido, durante cinco años nada más que fosfatos y potasa, producía buenas cosechas de lupino.

J. B. Boussingault y J. B. Lawes hicieron una constatación análoga, y todos los experimentadores han podido verificarla.

TRABAJOS RECIENTES

Estas constataciones condujeron á los sabios á emprender nuevas investigaciones. Berthelot, en primer lugar, declara en 1876, que los compuestos orgánicos y los suelos arcillosos absorben el ázoe; esta absorción, era debida, según él, á una acción eléctrica ó á la acción de micro-organismos, ó á estas dos acciones operando conjuntamente.

Después se ocuparon especialmente de las familia de las leguminosas. Las raíces de las plantas de esta familia presentan siempre pequeñas protuberancias de formas variables, redondas, ovales, segmentadas, etc., etc. Se conocía su existencia desde hace mucho tiempo, pero las opiniones estaban muy divididas en lo relativo á su origen y naturaleza. Para unos (Malpighi), eran agallas; para otros (de Candolle y Tulasne), «tumores mórbidos»; para otros aún (De Vries, Tschirsch, Van Tieghem y Treveranus), brotos abortados ó formas de raíces; pero, para la mayor parte de los autores, ellas eran producidas por la acción de algún vegetal inferior; nadie pensaba atribuirle un rol especial.

El primer sabio que comprendió que la fijación del ázoe

del aire era debido indirectamente á estas nudosidades fué Hellriegel, en Alemania. En 1879, afirma netamente que las leguminosas tenían el poder de fijar ó al menos, de absorber de una cierta manera el ázoe libre; que los pequeños tubérculos que se observan en las raíces jugaban un rol esencial en esta fijación; que esta acción era ejercida por micro-organismos; y que, como la infección del suelo en el cual habían vegetado las leguminosas podían comunicarse á las plantas, estos micro-organismos debían ser bacterios.

La última de estas conclusiones era aventurada; y en cuanto á las otras, las experiencias producidas tenían un carácter muy general para justificarlas. En efecto, ni el suelo, ni las plantas, ni el agua de cultivo no habían sido analizadas; las diferencias entre los diversos lotes de plantas no eran bien limitadas, y en cada lote, las plantas presentaban entre ellas numerosas diferencias. La autoridad del nombre de Hellriegel, sin embargo, dió un gran poder á su teoría, y su comunicación tuvo el feliz efecto de arrastrar en este camino á un gran número de experimentadores.

Pero la idea dominante acerca de la acción de los bacterios, parece haber sido mal conducida en la mayor parte de las investigaciones. En aquella época, se comenzaba solamente á entrever el rol que los micro-organismos jugaban en el mundo organizado, y por consiguiente, toda vez que se encontraba en presencia de un fenómeno inexplicable, se hacía intervenir los bacterios.

Doce sabios, por lo menos, (1) parecen haber sido guiados en sus trabajos por esta concepción; y sin embargo muchos entre ellos habían discernido las hifas de hongos en los tubérculos.

Otra opinión vino á superponerse á la de los bacterios; según varios autores, había en este hecho una simbiosis, es decir, una asociación en la cual las leguminosas se encar-

(1) No cito los nombres para que no parezca que los clasifico en la misma categoría; en el fondo, se puede decir que cada uno tenía una teoría distinta.

gan de proveer á los bacterios de sus alimentos, y los bacterios á su vez devuelven este servicio transformando el ázoe libre del aire, volviéndolo asimilable para estas.

Esta idea era plausible, pero no se puede decir que ella fué establecida con pruebas. De las discusiones y estudios á que ella dió lugar, parece resultar que podía ser contradecida, pero nadie propuso una solución más satisfactoria quedando esta idea más ó menos admitida desde hace veinticinco años.

Yo por mi parte no he creído jamás, poder admitir la intervención de los bacterios ni de la simbiosis en estas nudosidades, ni tampoco darle importancia alguna á estas nudosidades al punto de vista de la fijación del ázoe, y las experiencias que yo he practicado, en diversas épocas, desde hacen quince años, han robustecido mis dudas. Yo he adquirido, en los trabajos más recientes, el convencimiento que estas teorías debieran ser descartadas y también, lo que me parece de una evidencia convincente, es que el problema puede ser resuelto de una manera muy diferente y natural.

No es suficiente decir que no se admite una teoría. Hay que dar las razones, no solamente para justificar esta negación, sino para hacer aceptable una mejor. Antes de exponer, pues, las razones que me parecen naturales para legitimar otra solución, procederé á un exámen crítico de las doctrinas que han tenido curso en estos últimos veinticinco años.

BACTERIOS Y SIMBIOSIS Ú HONGOS?

Desde el principio, ya lo he indicado, tenía mis dudas en lo relativo á la acción de los bacterios y á la existencia de una simbiosis. Me parece que las pruebas presentadas en apoyo de estas teorías no eran decisivas ó, por lo menos, se adoptaban estas teorías sin pruebas suficientes. En esta época, yo terminaba los estudios relativos á la enfermedad hernia, de las crucíferas, enfermedad que es evidentemente

causada (como lo ha demostrado Woronin), por un hongo, doctrina generalmente admitida hoy. Las experiencias efectuadas en nuestra Asociación han establecido que para que la enfermedad pueda desarrollarse, es necesario que la planta se encuentre en estado débil, resultante de diversas circunstancias, y particularmente por el empleo de abonos ácidos. De aquí partió mi idea, que la formación de las nudosidades de las leguminosas se explica probablemente de la misma manera, es decir, que ella es debida á un hongo. Pero, como esta cuestión era ya objeto de estudios por parte de varios sabios distinguidos, yo me limité á revelar algunas observaciones de tarde en tarde y á seguir de cerca las de otros investigadores.

Una de mis observaciones me confirma la opinión que se trataba de un hongo. En efecto, se había constatado en el caso de las crucíferas, que eran sobre todo los superfosfatos ácidos los que producían la debilidad en la planta, permitiendo á la enfermedad su desarrollo; por otra parte, una experiencia practicada sobre el trébol, con cantidades variables de superfosfatos, dá los siguientes resultados:

NÚMERO DE NUDOSIDADES.

	principales	secundarias	totales
Sin superfosfato	40	18	58
0.500 gr. de superfosfato.....	61	27	88
1.000 " " "	76	52	128
1.500 " " "	120	74	194

De manera que, á medida que aumenta la dosis de superfosfato, el número de nudosidades es mayor; habiendo constatado que las nudosidades estaban reunidas más ó menos en el volúmen de tierra que había sido mezclada con superfosfato. En las partes donde la dosis de superfosfato era mayor, los resultados se modificaban; las raíces se volvían más fibrosas,

nudosidades eran bacterios. Más tarde, como se viese que estos no correspondían á los bacterios ya conocidos, se les dió el nombre de bacteroides, es decir, corpúsculos análogos á los bacterios, ó supuestos ser de los bacterios.

La teoría bacteriana fué tan bien implantada en Alemania, que dió lugar al desarrollo de una verdadera industria, teniendo por objeto el comercio de los bacterios de las leguminosas para inocularlos á los suelos; se les vendían bajo el nombre de nitragina. Estos no dieron el resultado esperado. Se fabricaron mejores preparaciones, que fueron igualmente puestas en el comercio con éxito negativo. Pero la teoría bacteriana y simbiótica, que se arraigó bien en la opinión pública, persiste, y se le enseña aún, probablemente, como una verdad demostrada.

Otras hipótesis fueron hechas en la época en que aún se dudaba, Así, Schultz, de Lupitz, el Dr. Gilbert y otros autores dieron á suponer que eran las extremidades de las raíces metidas en el sub-suelo que proporcionaban el ázoe á las leguminosas. Se ha evidenciado, no obstante, que, aún las raíces más vigorosas, no penetran en el sub-suelo (salvo el caso, que esté desagregado ó presente una endadura y en este caso las leguminosas, no presentan nada de particular por su penetración), tan profundamente que el largo de esas raíces parecen indicarlo, y que llegando al contacto del sub-suelo duro, ellas siguen su superficie, tomando la línea de menos resistencia. La teoría indicada con respecto á esto no puede por consiguiente sostenerse.

HONGOS ENCONTRADOS EN LAS NUDOSIDADES

Poco á poco, sin embargo, se fue viendo claro en este asunto, y esto gracias á los trabajos de Vuillemin en Francia (1889) y de Franck en Alemania. Erickson había encontrado anteriormente, hifas de hongos en las nudosidades y les había atribuído á éstas su formación; otros experimen-

tadores llegaron: también á discernir las hifas, pero no parecieron darle grande importancia á este hecho. Vuillemin, logró aislar el hongo completamente; hizo su descripción en detalles y también las de las nudosidades y sus relaciones con las raíces. Demostró en primer lugar, que la nudosidad no es una masa de células simples, pero sí una coordinación vascular correspondiente á la raíz de la leguminosa (como lo había notado anteriormente Gasparini y otros), de suerte que no se le podía considerar como una masa de sustancia superpuesta á la raíz; y en segundo lugar, hay una mezcla íntima con la nudosidad, un verdadero hongo cuyo modo de desarrollo es semejante al de los hongos en general y soporta la formación de hifas, esporídeas, esporos y zoosporos. Vuillemin, dió á este hongo, siendo el primero él en determinarlo y figurarlo, el nombre de *Cladochytrium tuberculorum*. Cita como participante en su manera de ver, á Brunchorst, quien consideraba los pretendidos bacterios, como simples fragmentos de tejido anormal desagregado, no siendo derechos y uniformes como bacterios ó bacilos, pero generalmente ramificados y recurvados en ángulo, y resistentes á los reactivos enérgicos, como el ácido sulfúrico, ácido pícrico y amoniaco.

Parece que la presencia de un hongo completamente desarrollado, y presentando todas sus formas de reproducción, dá una explicación suficiente de la formación de las nudosidades y de todos sus caracteres.

El hecho cierto es que se ha encontrado un hongo, y, como lo vamos á demostrar, la excitación producida por un hongo es suficiente para explicar la aparición de todos los fenómenos observados en las nudosidades.

ABSORCIÓN DEL ÁZOE

Pero, si este descubrimiento bastára para anonadar la teoría de la acción de los bacterios, no explica la fijación del ázoe.

Más ó menos en la misma época, Franck hizo dar un gran paso al conocimiento exacto de la cuestión, estudiando en detalle todas las fases de la fijación del ázoe. Los resultados de sus investigaciones pueden ser resumidas como sigue:

1° En lo que concierne á los trabajos anteriores, estima que la idea dominante fundada en las experiencias de Bous-singault y Lawes, quienes pensaban que las plantas no podían fijar el ázoe, es una conclusión basada en el estudio de plantas atrofiadas;

2° En lo que concierne á la teoría de las nudosidades, los ensayos de Hellriegel están lejos de probar, según él, que las nudosidades fijan el ázoe; demuestra que se pueden obtener plantas vigorosas cultivándolas en un suelo esterilizado sin nudosidades, y demuestra aún por sus experiencias que éstas son más vigorosas en estas condiciones; demuestra que las manchas que se consideraban como bacterios no son sino restos de un tejido anormal de las plantas, y considera los tubérculos como micorizas, es decir, hongos asociados á las raíces y viviendo en simbiosis con ellas;

3° En lo que concierne á la absorción del ázoe por el suelo, Franck demuestra que los suelos expuestos al aire, experimentan ordinariamente pérdidas por descomposición de sus materias orgánicas, aunque puede también producirse una ganancia (en los suelos gredosos) Th. Schloesing ha constatado, en ensayos muy precisos efectuados con seis tipos diferentes de suelos, y comprendido un suelo gredoso, que la exposición al aire no ejerce una influencia apreciable sobre el tenor del suelo en ázoe;

4° En lo que concierne á las trazas de amoníaco y ácido nítrico arrastradas por las lluvias á los suelos, estima que no son lo suficiente para explicar el enriquecimiento de las leguminosas en ázoe, pues la cantidad arrastrada no se eleva, según las experiencias hechas en el continente que á 2 kgr. 800 por hectárea y por año, y según Lawes, como máxi-

mum á 5 kgr. 600 por hectárea; ahora bien, una cosecha ordinaria contiene 56 á 120 kgr. (por otra parte todas las plantas reciben su parte de este ázoe y no solamente las leguminosas)

5° En lo que concierne á la absorción del ázoe por las raíces, las experiencias minuciosas que ha efectuado no dan ninguna indicación que permite creer que las raíces, poseen esta facultad.

6° En cuanto al enriquecimiento de las plantas en ázoe, Franck ha demostrado: 1° que las algas absorben y fijan ciertamente el ázoe (lo que confirma los resultados obtenidos por Boussingault y Berthelot, aunque estos autores han supuesto la presencia de algas, mientras que Franck las ha visto); 2° que la colza y la avena parecen enriquecerse en ázoe, pero débilmente (tan débilmente, que se podía preguntar si había absorción); pero, 3°, que las leguminosas se enriquecen en ázoe en un grado muy notable, por un procedimiento inexplicado;

7° Relativamente á las diferencias observadas en la manera de como las diversas plantas se enriquecen en ázoe, Franck reconoce que no es posible explicarlo, pero estima que la fijación de ázoe está en relación directa con el vigor de crecimiento de la planta y la calidad de sustancias vegetales en presencia;

8° Relativamente á la manera como las leguminosas absorben el ázoe, prueba que la naturaleza y el sitio en estas acciones no nos es conocida, pero, para él, la sola explicación que es aceptable, hasta nueva orden, es que las algas absorben el ázoe, después se descomponen en el suelo, y el ázoe se transforma ulteriormente en ácido nítrico asimilable por las plantas superiores. Franck reconoce que es esta una explicación insuficiente (y hasta defectuosa, pues todas las plantas se enriquecen en ázoe de la misma fuente), pero estima que es conveniente aceptarla provisionalmente, por ser la única basada sobre comprobaciones científicas, hasta que se encuentre otra más aceptable.

9° Relativamente al proceso por el cual el ázoe es fijado, no es aún conocido, pero Franck parece pensar que llegará un día que se descubrirá en las plantas un órgano especial destinado á absorber y á fijar el ázoe; agrega, á propósito de las diferencias observadas en el poder absorbente de las diferentes plantas, que «ellas se explican probablemente por las diferencias en la cantidad y calidad de los órganos encargados de esta función».

Se verá, en las páginas siguientes, que esta producción es al presente netamente realizada.

En apoyo de su teoría sobre las algas, Franck cita diversos resultados de experiencias, especialmente ésta que es importante: se trata de macetas llenas, las unas de arena, las otras de arena y de cal (marga), que fueron expuestas bajo vidrio durante seis meses y regada con agua destilada. Franck vió las algas desarrollarse en abunancia en algunas de estas macetas.

MACETAS		
	Conteniendo arena	Conteniendo marga
	Azoe en gramos	Azoe en gramos
Al comienzo de la experiencia....	0.3383	0.3480
Al fin de la experiencia.....	0.4238	0.4736
Ganancias.	0.0855	0.1256
Por ciento	25.27	36.09

A fin de varificar si esta ganancia era debida, al menos por una parte, á la acción de partículas minerales del suelo sobre el aire, Franck efectuó la misma experiencia sobre el mismo suelo, pero tomando precauciones para impedir el desarrollo de algas, y también con sales de cal y de magnesia, á baja y alta temperatura. Advierte que se forman en efecto, nitratos, pero en trazas tan ínfimas que no podían ejercer una influencia apreciable sobre las ganancias observadas más arriba. Esta formación alcanzaba su máxima á

temperatura elevada (100°), y no comienza sino á partir de 22°, es decir, á una temperatura más elevada que aquella á la cual la sal en que vegetan las algas es expuesta, á parte de circunstancias excepcionales. Eso confirma que lo ganancia en ázoe era debido á la sola acción de las algas.

Franck ha cultivado, en arena esterilizada proveniente de la misma procedencia, lupinos, avena y colza, obteniendo los siguientes resultados:

	LUPINOS		COLZA	AVENA
	en la arena Gramos	en la marga gramos	en la marga gramos	en la marga gramos
Azoe antes de la experiencia (suelo y granos)	0.4941	0.5688	0.3037	0.2882
Azoe después de la experiencia (suelo y cosecha).	1.2534	1.3309	0.4242	0.3983
Ganancia	0.7593	0.7621	0.1205	0.1101
Sea, en por ciento	153.67	133.98	39.67	38.20
Garancia en el suelo, por ciento	25.27	36.09	36.09	36.09
Ganancia neta en las plantas %	128.40	97.89	3.58	2.11

Se vé por lo tanto que la ganancia de las algas en ázoe en la arena es evidente (había sido ya demostrado por Boussingault y Berthelot); que la del lupino es muy considerable, y esto sin el auxilio de los bacterios, pues no se forman nudosidades en las plantas cultivadas en arena esterilizada; en fin, la ganancia en ázoe es muy débil en el caso de la colza y la avena; si interpreto exactamente las cifras dadas por Franck, parece no haber ganancia notable.

En todo caso una proporción de 2 ó 3 % sobre una cantidad total de 1 decígramo entra seguramente en los límites admitidos en los errores de análisis. Ahora bien, si llevado que sea, en razón de otros argumentos producidos más tarde, á admitir que la avena y la colza se han enri-

quecido en ázoe, no es posible decir que estas experiencias lo hayan probado de una manera concluyente. Si estas plantas han absorbido un poco, ó quizá nada absolutamente, esto se debe sin duda á que estas vegetaban miserablemente en un suelo ligero y casi estéril; el peso de las plantas era muy pequeño y hemos visto que para desarrollar sus capacidades ellas tienen necesidad de estar en pleno vigor.

Puedo agregar aquí que he podido verificar estas experiencias en lo que concierne al lupino. He cultivado las plantas en la arena, donde había previamente, dosado el tenor en ázoe, habiendo efectuado el mismo dosage, después de la experiencia, en la arena, el lupino y el agua de cultivo. He empleado 34 kilogr. de arena, de la cual tomé con cuidado una muestra al principio y al fin de la experiencia. El ázoe soluble de la arena fué extraído por el agua y dosado, lo mismo que el ázoe insoluble.

He aquí los resultados:

	Azoe en gramos
En la arena antes de la experiencia	0.1432
En los granos del lupino empleado	0.0034
Azoe total al principio	0.1466
En la arena al fin de la experiencia	0.3757
En las plantas	0.1930
En el agua recogida	0.0005
Azoe total al fin	0.5692
Ganancias en ázoe	0.4226

sea 288 % en relación á la cantidad primitiva.

La ganancia en ázoe que resulta de esta experiencia es superior á la encontrada por Franck; esto es debido sin duda á que las plantas eran más vigorosas y que la cantidad de arena empleada era más grande, lo que proporcionaba á las algas más espacio para desarrollarse.

La fijación del ázoe del aire por las algas parece por lo

tanto bien demostrado, y la fijación por las leguminosas claramente demostrado también. Nosotros no sabemos de qué manera se opera esta fijación, pero no es ciertamente por la acción de bacterios; hay indicios de fijación del ázoe por otras plantas que no son de las leguminosas, pero indicios tan pequeños que no se puede considerarla como establecida. Si el proceso de la fijación del ázoe no está aún dilucidado, la presencia de un hongo en las nudosidades de las leguminosas está bien demostrado; es pues inútil suponer la presencia de bacterios, que por otra parte no han sido descubiertos, y que es imposible admitir.

Los trabajos de Vuillenin y Franck han contribuido grandemente á disipar las leyendas. Pero estos no son los únicos sobre quienes podemos apoyarnos, pues esta manera de ver está repartida hoy dia entre la mayoría de los sabios los más autorizados. (1)

En el estado actual de la cuestión, tres hechos salientes son importantes de retener y que deben ser bien precisados para evitar toda confusión:

1° La teoría según la cual la formación de las nudosidades es causada por los bacterios no está confirmada por los hechos; no es sino una simple hipótesis. Las nudosidades no difieren de las tuberculisaciones ordinarias provocadas por los hongos, y en efecto se ha encontrado un hongo, mientras que no se han encontrado bacterios,

2° La nudosidad es un órgano normal, conteniendo una reserva normal de elementos nutritivos, formada por la asociación de un hongo en simbiosis con la leguminosa;

3° Las algas absorben y fijan el ázoe directamente; las

(1) Aquí aún, no quiero citar nombres, no deseando que se crea que clasifico en un mismo grupo á personas que pueden diferir en opiniones bajo diversos puntos de vista. Pero me está permitido nombrar algunos de los principales sabios que se han ocupado de la cuestión, á fin de mostrar simplemente cuanto ha despertado el interés; estos son: Brunchorst, Tschirsch, Van Tieghem, Hellriegel, Franch, Vuillenin, Schlesing, Atwater, Woods, Scheider, Kedzie, Prazenowsky, Nobbe, Burginck, Wilfarth, Fruwirth, Saifeld, Worwrin, de Vries, Urgand, Lohrer, Mattie, Donillet, Schindler, Mattioli, Busealioni, Ward, Laurent, Benecke, Lecointe, Erickson, Prilleux y Kay.

leguminosas se enriquecen en ázoe por un proceso que no nos es conocido; las unas como las otras, descomponiéndose entregan el ázoe al suelo.

El primer y el tercer punto me parecen bien adquiridos.

El segundo punto no está, á mi manera de ver; yo considero á las nudosidades como formaciones anormales, y la reserva de elementos nutritivos que ellas contienen como producida por un accidente, que es el ataque de un hongo. El fenómeno que se produce no tiene el carácter de una simbiosis; para mí, no es el hongo que fija el ázoe, es la leguminosa misma, que fabrica materias albuminosas y las acumula para curar la parte atacada. En una palabra, como lo demostraré más adelante, las nudosidades no tienen nada que ver con la fijación del ázoe del aire.

PRUEBAS ACCESORIAS

Se hubiera podido creer que según los trabajos de Vuelmin y de Franck, la teoría de las nudosidades sería abandonada una vez por todas. Pero, cuando una teoría de apariencias plausible está bien repartida y arraigada, es difícil destruir. Tan es así que, quince años más tarde, un biólogo francés, Kayser, pasando en revista el rol de los microbios del suelo, escribe en 1905: «Se sabe que el ázoe libre puede ser fijado por ciertos microbios viviendo en simbiosis con las leguminosas».

Según la demostración directa hecha en las páginas precedentes, me parece necesario dar aún algunas pruebas accesorias, para disipar definitivamente la idea que ciertos hechos parecen indicar un rol jugado por las nudosidades.

1° *Riqueza de las nudosidades en ázoe.* — Como explicar este hecho que las nudosidades son relativamente ricas en ázoe, tal como lo demuestra el análisis, á continuación, de

un lupino, cuyas cifras son calculadas por 100 de materias secas:

	<u>Azoe</u>
En las raíces	1.13
En las nudosidades	7.25
En los granos	6.80

No veo en esto sinó lo natural. La planta es atacada, una brecha está abierta en sus tejidos, la savia se transporta hacia esa llaga para curarla; luego, no solamente la savia de las leguminosas es rica en ázoe, pero su elemento el más azoado, la albúmina, es precisamente el elemento plástico (como la clara de huevo), especialmente apropiado para curar la herida y construir un saco alrededor del invasor esto sin matarlo precisamente, pero impidiéndole extender sus extragos. El profesor Trail, de la universidad de Aberdeen, que ha estudiado especialmente las formaciones mórbidas, ha afirmado que la acción de un hongo es suficiente, no solamente para provocar la formación de tubérculos de este género, sino también para suscitar en la planta una reacción que puede esta, dar lugar á la construcción de tejidos y tener por efecto una cierta riqueza de composición, como se observa en una especie del género *Juncus* (*J. bulbiformis*)

2° *Las nudosidades están vacías á la madurez de la planta.*—Como explicar que, cuando la planta ha finalizado su vegetación, se encuentran las nudosidades al estado de sacos vacíos, como si ellas no hubieran sido sinó depósitos naturales de reservas para ser utilizadas por la planta en el momento de la formación de sus granos ricos en ázoe?

Esto se acuerda con lo que indica nuestra teoría. En efecto, mientras que la actividad de la planta está consagrada, en las primeras fases de la vegetación á la producción de hojas, tallos y raíces, la savia se reparte en todo el organismo; pero cuando llega el momento de formar los granos, son estos el objeto hacia el cual se lleva toda la acti-

vidad de la planta; ella absorbe todo para ellos y vacía las nudosidades de su savia, lo mismo que á otras partes.

3° *Infección del suelo por la tierra de las leguminosas.*— La materia de los tubérculos se reparte á tal punto en el suelo que, cuando se toma tierra en la cual han vegetado leguminosas, puede utilizarse para comunicar la infección á otra tierra y provocar la formación de tubérculo. Como explicar esto?

Aunque yo no he visto jamás citar observaciones según las cuales se haya constatado que las hifas de hongos se propaguen fuera de las nudosidades, me parece probable, y aún casi cierto, que es lo que se produce. Pero, aún sin esto, es suficiente examinar las nudosidades para constatar que ellas son generalmente perforadas en el vértice (hecho demostrado por Tschirsch); esta abertura permite á los esporos y á las esporidias (observadas por Brunchorst, Vuillemin y otros autores), su salida, cuando el hongo ha llegado á la madurez; además, quedan muchos esporos aún en las nudosidades vacías ó casi vacías, que se descomponen en el suelo. Hay, pués, muchos esporos puestos en libertad (Ward lo ha positivamente constatado), y son lo suficiente para infectar el suelo.

Se pretende que la infección por los hongos no solamente produce la tuberculización, sino que aumenta también el vigor de las plantas. El hecho no parece estar demostrado; en todo caso, antes que la planta pueda resistir la acción del ataque, es necesario que ella haya comenzado á tomar vigor; muy poca cosa es suficiente para dárselo, y es posible que las cualidades fertilizantes de la tierra agregada para producir la infección es suficiente. Pero los hechos observados por Franck y otros investigadores están en contradicción con este pretendido aumento de vigor.

4° *Aumento del rendimiento de los cereales vegetando después de una leguminosa.*— Porqué los cereales dan un rendimiento superior al rendimiento ordinario cuando se les cultiva después de una leguminosa?

Esto se explica:

1° Por la presencia en el suelo de micelium y de esporos de hongos, que, habiendo sido nutridos por una savia azoada, contienen forzosamente ázoe, el cual suministra las combinaciones habituales después de la muerte y descomposición del organismo;

2° Por la descomposición de las nudosidades vacías ó parcialmente vacías;

3° Por la descomposición de las raíces, ricas en ázoe.

4° *Nudosidades sobre plantas que no son leguminosas.* Es un hecho bien conocido, que hay muchas plantas en las cuales se observan protuberancias y otras vegetaciones anormales, causadas por los hongos; y causa extrañeza la importancia excepcional atribuída á estas que se producen en las leguminosas, se les ha dado un nombre especial, el de nudosidades. Es mucho decir que las leguminosas sean las solas plantas que presentan nudosidades.

Yo he observado sobre el lino, colza y el nabo (sin hablar de la enfermedad de la hernia, producida en los nabos por la *Plasmodiophora brassicae*). Pero, en estas plantas, las nudosidades son mucho menos frecuente que en las leguminosas, y generalmente no se les nota, porque las raicillas en las cuales se encuentran quedan por lo común en el suelo.

Había pensado dar aquí algunas figuras de las nudosidades de otras plantas, á fin de mostrar la analogía con las que se observan en las leguminosas, pero me parece inútil sobre cargar mi estudio con esto, sobre todo que su existencia no nos enseña nada nuevo. El hecho es conocido desde hace mucho tiempo, aunque no es posible enumerar de una manera precisa las plantas que están sujetas á ser de este modo atacadas.

Me basta decir que las nudosidades observadas en estas plantas, son únicamente producidas por los hongos, como lo prueba la presencia de una masa confundida de mices-

lium, de hifas bien reconocidas en el interior y alrededor de este micelium, esporos y esporidias.

Es necesario, pues, apartar esta idea que la formación de nudosidades en las leguminosas es una cosa excepcional; esto no es sino un caso entre muchos otros análogos; solamente, es particularmente caracterizado en las leguminosas, porque son estas plantas ricas en ázoe y, por consiguiente muy sujetas á los ataques de un hongo ávido de materias azoadas. Tenemos un caso análogo en: los nabos, donde se ven los campos casi destruidos por un hongo especial.

RESUMEN

Se puede resumir como sigue las comprobaciones concernientes á las nudosidades:

1º En primer lugar, está reconocido que se pueden obtener culturas prósperas de leguminosas sin que estas posean ninguna nudosidad; como las leguminosas siempre adquieren ázoe, esta constatación tiende á probar que la fijación del ázoe puede operarse sin nudosidades.

2º Las nudosidades contienen un hongo, y este hecho permite explicar todas las observaciones hechas sobre las nudosidades; por otra parte, como resulta de los estudios practicados que los hongos no absorben el ázoe, se puede admitir que la fijación del ázoe por las leguminosas no depende de este hongo;

3º La existencia de las nudosidades en las leguminosas no tiene nada de excepcional, pues hemos visto que muchas plantas presentan hinchazones análogas, producidas por hongos. Que estas nudosidades sean particularmente abundantes y voluminosas en las leguminosas, esto no tiene nada de sorprendente, es el resultado natural de la acción de un hongo ávido de ázoe sobre una planta rica en este elemento, lo mismo que los nabos son atacados por un hongo que produce la enfermedad de la hernia;

4° Estando establecido que no hay bacterias en las nudosidades, ó, al menos, que las pretendidas pruebas de su presencia en las nudosidades se reducen por así decirlo á nada, se anula por lo tanto la teoría según la cual los bacterios fijan el ázoe;

5° De lo que resulta que la teoría de la simbiosis en las nudosidades puede igualmente ser descartada.

De esta manera se nos lleva á concebir la idea, á decir verdad con falta aún de fundamento positivo, que es la planta por si misma la que fija el ázoe. No queda sinó que buscar argumentos que apoyen esta idea.

II

LA FIJACIÓN DIRECTA DEL ÁZOE POR LAS PLANTAS

Me doy cuenta muy bien de la responsabilidad que asumo formulando una nueva doctrina sobre un tema tan importante como lo es la fijación directa del ázoe por las plantas; pero treinta años de estudios, consagrados especialmente á la alimentación de las plantas, me han permitido reunir materiales y elementos de apreciación de que pocas personas disponen. No he adoptado esta teoría á la ligera; ella ha sido elaborada en mi espíritu, durante largos años, y reforzada gradualmente por los resultados de mis investigaciones durante este lapso de tiempo. He obtenido recientemente resultados de una naturaleza tan concluyentes que creo poder hoy declarar que *las plantas en general absorben directamente el ázoe del aire y lo transforman en albúmina; la cantidad absorbida varia con el número y naturaleza de las facultades especiales que le permiten ejercer esta función, y con las condiciones de vegetación, más ó menos favorables á la constitución de estas apropiaciones.*

Antes de buscar demostraciones directas, es suficiente considerar, de una manera general, las necesidades de adapta-

ción en la naturaleza para ser conducidos á admitir la fijación directa del ázoe por las plantas. En efecto, se sabe que diversos fenómenos naturales que se producen en gran escala (combustión, putrefacción, descomposición, reducción de los nitratos, germinación, etc.), ponen ázoe en libertad. Ahora bien, si la atmósfera se enriquece constantemente así en ázoe, la proporción de este gas debiera aumentar considerablemente con el tiempo, si no existiera un modo de adaptación que lo mantuviese en su cifra normal. Como la proporción de ázoe contenida en el aire se mantiene sensiblemente constante, es necesario que se produzca una absorción correspondiente, y en cantidad tan considerable que solo los vegetales pueden efectuarla.

Además, existen praderas, montañas y otras vastas extensiones de terreno que no son jamás labradas ni abonadas, pero pacidas por animales; estos animales, sin duda, devuelven al suelo una parte de los elementos nutritivos, pero sin dar una gran cantidad, sin embargo estas tierras continúan de tiempo inmemorable, produciendo vegetación.

Como sería esto posible, si ellas no se procuraran el ázoe necesario? La cantidad ínfima de ácido nítrico y las trazas infinitesimales de amoniaco contenidas en el aire están lejos de ser lo suficiente para satisfacer el déficit.

Y los bosques? Algunos viven en un buen suelo; pero otros como ciertos bosques de *resinosos*, vegetan sobre una delgada capa de suelo rocoso, que debe seguramente ser agotado al cabo de un cierto número de años, de todo el ázoe que ellos contenían, ¿como se procurarían las enormes cantidades de ázoe que representa esta vegetación, si ellas no lo tomaran directamente en el aire?

En fin, los elementos minerales del suelo no contienen ázoe; lo contienen las materias orgánicas. Pero estas materias orgánicas no son sino restos de vegetales descompuestos; ¿en donde habrán encontrado el ázoe que dejan las plantas al descomponerse, si ellas no pudieran tomarlo del aire?

Nos hallamos, pues, con dos problemas: ¿Las plantas en general pueden fijar el ázoe del aire?

Si la respuesta es afirmativa, ¿cuáles son los órganos de la planta que lo fijan, y por qué procedimiento?

Al exponer estos problemas, volvemos á tomar la cuestión tal cual se encontraba sentada en 1804; en efecto, los trabajos publicados desde aquella época hasta nuestros días, aunque han traído muchas nuevas luces, no han resuelto, ó mejor han resuelto negativamente la cuestión de la fijación *directa* del ázoe por las plantas superiores; ellos han establecido la fijación directa del ázoe por las algas; han demostrado que las leguminosas se enriquecen en ázoe (y han querido ver en esto una fijación *indirecta*); pero no nos han informado sobre la fijación del ázoe por las otras plantas.

Precedamos por orden. Admitamos por el momento, únicamente para arribar á un método de investigación, que las plantas absorben y fijan directamente el ázoe; estamos obligados por lo tanto á preguntarnos ¿cuáles son los órganos por donde se opera esta fijación?

Si examinamos esta pregunta, sin ideas preconcebidas, la respuesta se presenta espontáneamente al espíritu.

La planta se compone de cuatro partes: las flores, el tallo, las raíces y las hojas.

La fijación del ázoe no puede operarse por las flores, pues esta se produce antes de su aparición. Esta no puede producirse en el tallo, porque es por lo general leñoso, envuelto en una corteza impermeable ó de capas corticales compuestas en gran parte de tejidos fibroso, en lugar de tejido celular que es siempre el más activo. No se puede tampoco suponer que la fijación del ázoe se opera en las raíces, puesto que la naturaleza las sustráe casi completamente del contacto del aire, enterrándolas en el suelo, ó sumergiéndolas en el agua, donde el aire falta.

Parece, pues, muy verosímil que la fijación del ázoe, si

Hay fijación, debe operarse en las hojas, ó en los órganos foliaceos del tallo ó contiguas á este.

He llevado, pués, mis investigaciones sobre las hojas, convencido que el asiento de la fijación estaba en ellas, resuelto á descubrirlo.

Tenia como punto de partida la opinión, que me había formado desde algún tiempo. que las leguminosas no son las únicas que fijan el ázoe, y que todas las plantas de hojas tiernas, á epidermis delgada (y por consiguiente todas las partes verdes tiernas y expuesta de la misma manera al aire), absorben y fijan directamente el ázoe del aire; que las diferencias en la capacidad que ellas tienen para fijarlo, concuerdan con las diferencias en su estructura á este respecto, y en la exposición de las células verdes á la luz. Creo haber hoy día demostrado de una manera completa que esta teoría es exacta en su esencia; en todo caso, mis investigaciones recientes me han permitido hacer, en lo que concierne á los procedimientos especiales de absorción y fijación, comprobaciones notables que no esperaba.

Paréceme útil, para más claridad, exponer en primer lugar, algunas consideraciones generales sobre algunos grupos de plantas. Ellas establecerán que la solución que propongo concuerda con las leyes naturales y con los hechos de la práctica agrícola.

Hongos.—Se puede decir que estos vegetales inferiores no fijan el ázoe. Jodín, había creído que lo fijaban, después de haber notado que los hongos se desarrollaban activamente en el azúcar y que la proporción del ázoe disminuía en el aire confinado. Pero Pasteur, Hageli, Godlewsky y Bousingault, estuvieron de acuerdo en combatir esta manera de ver. Por otra parte, los hongos son incoloros, es decir, que no contienen clorófila, sustancia gracias á la cual las plantas verdes descomponen el ácido carbónico del aire. Parece pués, que se puede suponer razonablemente que la ausencia de clorófila debe también, según toda probabilidad, impe-

dirles absorber y fijar el ázoe del aire. Además, las plantas sin clorófila son *parásitas*, ellas toman su alimento (en carbono y en ázoe), á los otros vegetales; y según los conocimientos actuales, se puede admitir que los hongos son incapaces de conducirse como las plantas verdes.

Bacterios.--Los bacterios están también desprovistos de clorófila y son parásitos, siendo permitido llegar á la conclusión que no pueden fijar el ázoe. No obstante, Neumann, Beyerinck y Van Helden son de un parecer opuesto. Dadas las grandes diferencias que existen entre las diversas especies (entre aerobios y anaerobios, por ejemplo), es posible que los bacterios, ó al menos algunos de ellos, estén dotados de propiedades excepcionales con respecto al ázoe.

Algas.—Cuando pasamos á las plantas verdes, vemos que ellas poseen una facultad que le faltan á las otras, y que depende de la presencia de la clorófila. Las algas se componen de simples células verdes; estas células están generalmente aglomeradas, pero, en muchos casos, no hay sino una célula única, y cada una es una planta completa. Se admite que esas células tienen la propiedad de fijar el ázoe, muchos observadores, entre ellos Franck, lo ha demostrado experimentalmente.

Las algas absorben y fijan así el ázoe cuando ellas no lo encuentran á su disposición sino en el aire; por ejemplo, sobre las vertientes desnudas de las altas montañas de los Alpes. Ahí no pueden éstas, procurarse el ázoe sino tomándolo directamente en la atmósfera. En efecto, el aire contiene generalmente amoníaco pero esto no es sino en trazas infinitesimales, y aumenta sin duda únicamente en la proximidad de las villas y culturas; aún en los parajes donde existe más, la cantidad encontrada está lejos de ser la suficiente de una manera general, para poder explicar el abundante desarrollo de las algas, en esos lugares salvajes, á esas altitudes donde parece imposible que estas cantidades sean

alcanzadas. Es verdad que se forman también nitratos sobre las rocas desnudas, en esas altitudes, pero en cantidad muy mínimas, y que no parecen suficientes para explicar el pululamiento de las algas en todas partes donde éstas encuentran la humedad, la sombra y la protección necesarias. Las experiencias de Franck, efectuadas en condiciones donde toda sustancia azoada había sido descartada, parecen demostrar de una manera absoluta la absorción directa del ázoe del aire por las algas, y la cantidad absorbida por estas células vivientes no es despreciable, puesto que ella representa 25 á 36 % de la cantidad primitiva.

Dado pues que las algas fijan el ázoe del aire, se puede preguntar si no es natural suponer que las células verdes análogas que se encuentran en los vegetales superiores pueden igualmente fijarlo, cuando ellas están en condiciones favorables.

PLANTAS SUPERIORES

Las capas superficiales de las hojas verdes de las plantas superiores no son otra cosa que agregados de células verdes análogas separadas por una película epidérmica, expuestas al aire. Parece que no tenemos necesidad de buscar más lejos la explicación de la fijación; no tenemos sino que buscar la demostración de que ella existe.

Pero sí, en ciertas plantas, esas células no están separadas del aire sinó por una delgada epidermis, en otras la epidermis es más gruesa, y, en otras aún, las células están envueltas por un tejido fibroso. En las plantas de hojas amplias y tiernas, las células están bastante espaciadas; en las plantas de hojas duras, largas y estrechas, las células están apretadas las unas á las otras en líneas, y menos expuestas al contacto del aire.

Se puede razonablemente pensar que esas diferencias de estructura acarrearán diferencias en el grado de fijación del

á zoe, que ciertas plantas absorberán mucho, otras poco, y otras menos de lo que reclama la cultura intensiva.

La naturaleza parece proporcionar á cada uno lo que necesita, pues aún en las plantas que tienen las hojas duras y coriáceas al estado adulto, esas hojas, al estado jóven, son blandas y delgadas, lo que parecen destinadas á procurarse la débil cantidad de á zoe de que ellas tienen necesidad al estado natural ó salvaje, cantidad que no es suficiente, sin embargo, para la vegetación exuberante que ellas tienen en cultura.

Leguminosas.— En lo que concierne á las leguminosas, nosotros sabemos que todos los representantes de esta familia tienen las hojas largas y blandas.

El aire circula constantemente en esas hojas y no está separado de las células verdes internas, espaciadas entre ellas, sino por una cutícula delgada (provistas de aberturas ó estómatos que, según se supone, no sirve sino para la transpiración. Se sabe que es un hecho universalmente admitido, que son las células verdes (ó la clorófila que ellas contienen), que tienen la propiedad de descomponer el ácido carbónico, por una reacción que los químicos, hasta el presente no han conseguido reproducir. Luego ¿qué tiene de sorprendente el suponer que la planta por un mecanismo análogo, opera la fijación del á zoe, del cual ella tiene necesidad y con el que está en contacto constantemente? Esto parece muy verosímil, sobre todo cuando se considera que las simples células de las algas poseen esta facultad.

Nabos.— Las mismas consideraciones generales se aplican á estas plantas. El nabo es una planta acuosa, que acumula en su raíz carnuda 90 % de agua, más ó menos. He verificado que son las hojas las que más agua absorben por ser el organismo que tiene más necesidad.

Las personas que hacen este cultivo en gran escala observan que las plantas se mantienen verdes y continúan vegetando en las estaciones secas, mientras que la tierra hasta

el sub-suelo (donde las raíces no se entierran), está tan seca como lo puede estar la ceniza.

Es de suponerse, pues que el rol de las hojas no se limita á lo descomposición del ácido carbónico y que este rol puede volverse doble en caso de necesidad; ¿qué impide creer que sea triple?

Que el nabo fija ázoe, es una cosa en la cual no se ha pensado hasta el presente y á decir verdad, no se le considera como una planta rica en ázoe. No contiene seguramente, tanto como las leguminosas, pero no tiene necesidad de mucho; contiene más que los cereales, á los cuales se está obligado proporcionarles el ázoe artificialmente. Sin embargo, los cultivadores saben, y los ensayos han demostrado que el nabo no tiene necesidad sino de una cantidad de ázoe inferior á la que contiene la cosecha. Como explicar esto? Es suficiente sin duda considerar sus hojas numerosas, muy anchas, á epidermis delgada; y recordando lo que hemos dicho más arriba, se estimará muy verosímil que estas hojas absorben y fijan el ázoe, como lo hacen las células de las algas.

Cuando el suelo es muy pobre en ázoe, los nabos producen poco sino se les aporta este elemento artificialmente, porque el grano no contiene bastante ázoe para producir una planta vigorosa. Al principio, las pegueñas hojas formadas no pueden proporcionar sino una débil cantidad, suficiente sin duda para la vegetación de la planta en estado salvaje, pero insuficiente para el desarrollo rápido y voluminoso que debe tomar en cultivo. En este caso, es necesario enriquecer el suelo en ázoe. Pero, si es suficientemente fértil para permitir á la semilla desarrollarse vigorosamente, se ha comprobado que un aporte de ázoe es inútil.

Hacemos constar aquí este hecho notable, que, cuanto más una planta contiene ázoe, más la naturaleza le mune de hojas anchas ó de una naturaleza especial (ofreciendo los

caractéres que parecen favorables a la fijación del ázoe), y menos se tiene necesidad de darles abonos azoados; muy poco es lo que necesita el nabo (30 á 60 kilogr. como máximum de sulfato de amoniaco por hectárea). Hay que observar que el ázoe así proporcionado no contribuye, en general, á formar materias albuminoideas, es decir, á aumentar la materia sólida producida; el solo aumento que resulta en el rendimiento, como lo han demostrado muchos cultivos experimentales, es un crecimiento del tenor en agua. Lo mismo, las leguminosas no piden abonos azoados y estos abonos parecen aún retardar su crecimiento ó incomodarle.

Si, por otra parte, consideramos las otras plantas que son objeto de grandes cultivos, los cereales y las plantas forrajeras, que exigen abonos azoados, vemos la situación inversa. Aquí, no tenemos más hojas largas y blandas, pero sí hojas estrechas, fibrosas y duras. En lugar de estar dispuestas de una manera irregular y bastante espaciadas, las células están unidas de una manera regular, compactas y casi envueltas de tejido fibroso.

Muy lejos estamos de que estas plantas puedan pasarse sin abonos azoados, aún en el caso que ellas sean molestadas en su vegetación por estos abonos, los reclaman imperiosamente para producir rendimientos elevados.

En todo esto, parece verse las precauciones tomadas por la naturaleza en vista de la vegetación al estado natural ó salvaje. En efecto, los granos de los cereales son bastante voluminosos y contienen una cierta proporción de ázoe; desde el principio de su germinación, producen un pequeño ramillete de hojas bastante tiernas y separadas, que son lo bastante probablemente para absorber suficientemente ázoe en el aire para formar al menos un tallo y muchos granos; si el suelo es de naturaleza fresco y las lluvias son suficientes, la planta puede aún formar sus jóvenes hojas en ramillete robusto para tomar más ázoe al aire y formar por consiguiente, varios tallos. Pero, en los cereales y las gra-

minaceas forrajeras, las nuevas hojas no quedan al estado tierno sino por muy poco tiempo, las fibras (tejidos vasculares), no tardan en aparecer en las hojas (ellos son por otra parte necesarios para sostener las hojas que se vuelven largas); las células se encuentran así envueltas de un tejido fibroso, obligadas á apretarse en columnas estrechas, en lugar de ser bien expuestas al contacto del aire como en las leguminosas ó en los nabos. Por consiguiente la facultad de fijar el ázoe parece disminuir en los cereales y en las graminaceas forrajeras, y si se quiere obtener un cultivo intensivo á grandes rendimientos, hay que recurrir á los abonos azoados; es lo que demuestra á la vez las investigaciones experimentales y la práctica agrícola.

Estas teorías generales, evidentemente, no son lo suficiente para constituir pruebas directas; pero ellas hacen comprender que admitiendo la fijación del ázoe por las hojas, se concilia á la vez los hechos de experiencias y los resultados obtenidos en los cultivos.

Para llegar á pruebas directas, he aprovechado mucho los estudios practicados por mí hacen algunos años, sobre plantas salvajes, y cuyos resultados no he olvidado. Estos estudios me han conducido á ocuparme de una planta que me dá inmediatamente la solución del problema. He analizado, entre otras, las plantas siguientes, habiendo encontrado las proporciones de ázoe indicadas más abajo; las cifras indican el tenor por ciento en las plantas completamente desecadas, para un promedio de uno ó tres análisis. La proporción varía en la misma planta y estas variaciones parecen depender del vigor de éstas.

	Azoe en las plantas secas
<i>Spergula arvensis</i> (espérgula).... .	4.40 %
I \ <i>Stellaria media</i> (capi-hi).....	2.95 »
<i>Urtica dioica</i> (ortiga).... .	3.02 »
<i>Sinapis arvensis</i> (mostaza de los campos)	2.57 »

		<u>Azoe en las plantas secas</u>
II	Ranunculus repens (botón de oro)	1.77 »
	Rumex acetosa (acedera)	1.59 »
	Bellis perennis (bellis).....	1.57 »
	Brunella vulgaris	0.89 »
III	Colza	2.88 »
	Trébol rojo	2.61 »
	Nabo	2.25 »
	Gramineas forrajeras.....	1.54 »
	Trigo.....	1.11 »
	Avena	1.10 »
	Cebada	0.88 »

Este cuadro proporciona á la cuestión una claridad singular.

Se nota:

1º Que las plantas salvajes del grupo I contienen más ázoe que ninguna de las plantas generalmente cultivadas, más aún que las leguminosas; algunas contienen tres ó cuatro veces tanto como los cereales;

2º Que en el grupo III, grupos de plantas cultivadas, aquellas que contienen más ázoe, son justamente las que necesitan muy poco ó nada de abonos azoados (las leguminosas y las crucíferas) y que aquellas que lo exigen son las que contienen menos ázoe.

Sin estos indicios relativos á las plantas salvajes, hubiéramos sido naturalmente inducidos á ocuparnos en primera línea de las hojas de las leguminosas, cayendo á golpe seguro en un error. Con estos antecedentes, fui inducido naturalmente á examinar estas plantas salvajes que eran particularmente ricas en ázoe, y la primera, ella sola, me proporcionó inmediatamente constataciones que, si bien me obligan á modificar un poco mi primera concepción, la confirman en sus grandes líneas y me revelaron en conjunto hechos de los cuales no tenía idea.

He comprobado que:

1° Las células verdes de las hojas, cuando están recubiertas de una epidermis aún delgada parece no absorber ni fijar el ázoe;

2° Antes que ellas puedan fijar el ázoe, es necesario que la epidermis sea reducida al estado de película extremadamente fina;

3° No solamente la epidermis adquiere generalmente este grado de fineza, sino que ciertas células se modifican especializándose de una manera notable, por una parte, reduciendo el espesor al minimum, por otra parte, exponiéndose lo más posible al contacto del aire;

4° Estas partes de las plantas son excepcionalmente ricas en albúmina (es decir el elemento azoado de las plantas);

5° Por su contenido, y las variaciones de este á las diferentes fases, es evidente que ellas absorben el ázoe del aire, lo transforman en albúmina y lo proporcionan á los organismos de la planta.

Es la solución definitiva de la cuestión de la fijación del ázoe del aire. Ni los bacterios ni los hongos entran en juego en este proceso; es un simple funcionamiento natural de las hojas, exactamente como la fijación del carbono tomado al ácido carbónico del aire.

Estas investigaciones han exigido mucho tiempo y esfuerzos, pues ha sido necesario hacer la mayoría de éstas, sinviéndose del microscópio, para descubrir órganos minúsculos perdidos en el laberinto de tejidos, generalmente confundidos y ocultos. No he arribado en el primer momento á la solución del problema; frecuentemente he tenido que volver á empezar el camino ya recorrido, modificar mis conclusiones, repetir muy á menudo mis observaciones sobre las diversas fases de la vida de las plantas.

Como se verá en las páginas siguientes, he estudiado plantas perteneciendo á familias muy diferentes; en todos los casos, he encontrado que habían órganos especiales que,

visiblemente, asumían de una manera más ó menos eficaz, la función de absorber el ázoe del aire y transformarlo en albúmina.

A fin de evitar las repeticiones, diré una vez por todas que para descubrir la presencia de la albúmina y verificarla, he recurrido á tres reactivos diferentes:

- 1º El yodo, que colora la albúmina en moreno;
- 2º El sulfato cúprico y la potasa, que la coloran en violeta.
- 3º El nitrato de mercurio y el calor, que la coloran en rojo.

La aplicación de estos tres reactivos, en cada caso, no me ha dejado dudas sobre la presencia de la albúmina en los casos por mí señalados.

I. — PLANTAS RICAS EN AZOE

Spergula arvensis

Esta planta salvaje, que crece en abundancia en los campos, y á la cual se le dá el nombre vulgar de *espérgula* de los campos, está dotada de un olor particular. El olor que se desprende de una pila de *espérgula* en descomposición, presenta una analogía sorprendente con el del guano azoadado. Evidentemente, la fuerte proporción de ázoe que he comprobado, es la causa de este olor, y los fenómenos que se producen en las hojas de la planta explican perfectamente la absorción da una gran cantidad de ázoe.

Las hojas no son anchas; son, al contrario, estrechas, largas, cilíndricas como el alambre. Pero son blandas y representarían, colocadas una al lado de otra, una superficie bastante ancha; y como el aire circula libremente en torno de estos filamento delgados, resulta una abundante aereación que explica la riqueza de estas hojas en ázoe. En

cambio, las cédulas están apretadas en columnas, como en los cereales, y envueltas de una epidermis bastante espesa, erizadas de pelos, lo que parecería hacer difícil la absorción del ázoe.

No obstante, examinando estas hojas en el microscópio, se vé en los pelos que las recubren, una estructura muy notable.

Los pelos de las plantas, en general, están formados por una sola célula alargada, delgada, terminada en punta fina, sin divisiones ni diferencias de estructura.

Los pelos de las hojas y de los tallos de *espérgula*, al contrario, están divididos en muchas secciones; la sección extrema, y *ella sola*, está coloreada de verde amarillento (es decir, del color habitual de la sustancia celular, ó clorófila). Las diversas partes están tan netamente delimitadas que es evidente que este pelo particular debe jugar un rol especial.

Hace mucho tiempo que había estudiado, recogido y conservado en herbario la *espérgula*, tal como lo hacen los botánicos, pero ni en las conferencias, ni en las obras especiales, no he visto que se le dé importancia alguna á estos pelos glutinosos. Los pelos glandulosos no son raros, ni tampoco los pelos articulados, pero se les estima más bien como una extravagancia, que como un hecho importante y, en el caso de la *espérgula*, su existencia no es sinó señalada en algunas obras botánicas muy importantes.

Aparte de los casos de que estos pelos presentan caracteres netamente distintivos, como los pelos picantes de las ortigas, los pelos digestivos de la *Pinguicula* y de la *Drosera*, que contienen grandes cantidades de azúcar, gomas, esencias olorosas, etc., etc., se considera estos órganos como simples pelos á esencia ó resina, basándose sin duda en su naturaleza aglutinante. La opinión admitida es que una materia segregada por la planta está contenida en las glándulas, y parece que nadie ha imaginado que una glándula

expuesta de una manera particular al contacto del aire, debe tener relaciones con este.

Los botánicos sistemáticos se ocupan sobre todo de estructura, de clasificación, de nomenclatura, y, en cuanto á aquellos que se ocupan de fisiología vegetal, no hay que pedirles que se entreguen al estudio de los fenómenos químicos que se producen en la alimentación de las plantas. Este estudio corresponde á los químicos agrícolas; pero estos se consagran generalmente á la química pura y poco examinan los fenómenos biológicos como el que nos ocupa.

Por consiguiente, nos encontramos en presencia de una célula de paredes excesivamente delgadas conteniendo clorófila verdosa y que un dispositivo especial hace enderezar en el aire. Con qué objeto? Se admite generalmente que los pelos sirven para proteger á las hojas contra el calor, ó contra los insectos, ó para facilitar ó regularizar la absorción de la humedad ó de la evaporación; pero aquí no hay nada que proteger, pues la epidermis es bastante espesa y, por otra parte, estos pelos esparcidos aquí y allí, dirigidos casi perpendicularmente á la superficie, no pueden servir de nada para protección contra el calor, ó para favorecer la absorción ó la evaporación, y en fin, no hay nada que atraiga los insectos. Parece por consiguiente que estos pelos deben tener otra utilidad, diferente de la que nosotros acabamos de hablar. Ellos son sensiblemente idénticos á una célula de alga, aislada y enderezada, al contacto del aire. No serán estos los órganos destinados á absorber y á fijar el ázoe?

Hice el ensayo con el iodo, con gran cuidado, pues mi curiosidad era bastante viva.

Gradualmente, la punta, y solamente la punta, que contiene clorófila, tomó una coloración morena oscura; en otros términos, este ensayo revela claramente la supuesta presencia de la albúmina, el principio azoado de las plantas.

La punta contenía clorófila, pero incontestablemente ella

encerraba, también mucha albúmina, siendo esta sola que la contenía; los segmentos inferiores del pelo permanecieron incoloros, ó no fueron sino debilmente coloreados, como si la materia albuminosa descendiera lentamente, ó hubiera descendido dejando trazas. Ninguna otra parte de la hoja se coloreó de una manera apreciable. El fenómeno era muy neto y sugestivo. Deseaba, sin embargo, tener la confirmación de la presencia de la albúmina, recurriendo á los otros dos reactivos. Obtuve una coloración francamente violeta con el sulfato de cobre y la potasa, y netamente roja con el nitrato de mercurio y el calor.

La presencia de albúmina en la punta de los pelos estaba por consiguiente demostrada de una manera indiscutible.

Quedaba aún por conocer la historia de estos pelos. Si la albúmina se formaba en las puntas, las cosas debían producirse de la manera siguiente: la albúmina faltaría al principio, después aparecería más tarde, en el período activo, y se retiraría por los canales intersticiales y contornos de las células de la planta, de suerte que pudiera no quedar más en el último período.

He comprobado que las cosas ocurren exactamente así.

Excusado es decir que no era posible observar toda esta sucesión de fenómenos sobre un mismo pelo; es sobre varios pelos elegidos á diferentes fases de desarrollo que he podido observarlos.

Me di cuenta que, para arribar á resultados probantes, era necesario partir de la joven plantula nueva de semilla. Se puede proseguir estas observaciones sobre la planta adulta, en las hojas al principio de su desarrollo; pero los pelos tienen una evolución rápida y, en general, aquellos que pueden observarse sobre las hojas formadas, más tarde han jugado ya su rol y se han vaciado de su contenido; en consecuencia, los reactivos tienen muy poco ó ningún efecto sobre ellos, y solo en la parte inferior del pelo, que ha conservado un rastro de la materia albuminosa sólida en su

pasaje al interior de la hoja. También la proporción de albúmina varía según la fase en la cual se observa el fenómeno.

Estas diversas fases son visibles en el dibujo (pl. I, fig. 5) que representan algunos pelos entre un gran número de los que he observado.

De aquí resulta:

1º Que no hay albúmina en el momento de la formación del pelo, cuando este no es aún sino una punta de clorófila verde comenzando á salir.

2º Que en el mismo momento que él finaliza su completo desarrollo no contiene albúmina;

3º Que él comienza al instante á formar y llenarse completamente de albúmina;

4º Que al propio tiempo él se vacía, de un líquido albuminoso, por el estrecho espacio que persiste sobre el contorno, y que más tarde evacua albúmina á un estado más sólido por la parte central de los segmentos inferiores;

Se vé en la figura 4 que la estructura del pelo permite una emanación continua de la sustancia albuminosa líquida á lo largo de las paredes, y de allí á los canales de la hoja;

5º Que éste vuelve á tomar su aspecto primitivo (algunas veces se agobia).

En este momento ha terminado su función, pero queda aún un poco de materia albuminosa rezumadas á través de las paredes, pegajosa al tacto y conteniendo fragmentos de polvo, etc.; es esto lo que explica probablemente la creencia en la existencia de materias resinosas ó aceitosas sobre estos pelos.

He aquí, por consiguiente hecha, tan netamente como es posible, la prueba que el ázoe es absorbido por las puntas de los pelos, es fijado y se transforma en albúmina.

Estos pelos están «especializados»; ellos parecen tener por función propia la de absorber el ázoe y transformarlo en

albúmina. Nada más evidente, con arreglo á las reacciones obtenidas y los fenómenos visibles.

Antes de continuar, es indispensable hacer notar su admirable adaptación á esta función. Esto nos dispensará volver sobre las mismas observaciones á propósito de los pelos análogos que existen en otras plantas. Para que podrá servir la albúmina sólida ó semi-sólida? Evidentemente, ella podrá difundirse gradualmente en la planta, pero la formación rápida de albúmina en el pelo arriesga obstruir el pasage, y una gran parte podría quedar fijada en la base del pelo. La existencia de estos segmentos debe necesariamente tener su utilidad; estos no sirven para darle rigidez al pelo, es más bien lo contrario. Su rol debe consistir en formar un filtro de los más ingeniosos. En efecto, á lo largo de las paredes de estos segmentos se encuentra un pasage ó canal cilíndrico, tan estrecho que no deja pasar nada más que líquido; la albúmina á un estado más concreto permanece al contrario algún tiempo en la punta, y es retenida más ó menos completamente, por un anillo del segmento superior. Los diversos segmentos constituyen canales transversales que facilitan el pasage cuando se produce una fuerte corriente de albúmina glutinosa.

En la base del pelo, estos canales desagüan en canales análogos, en número de cuatro ó más, que conducen al líquido albuminoso á todos los rinconcillos de la hoja, rodeando las células y alimentándolas. En fin, cuando el rol del pelo ha terminado, el anillo del segmento superior parece dilatarse, ó volverse menos rígido, y entonces, las partículas sólidas descienden al centro del pelo, se depositan en su base ó son acarreadas parcialmente por los canales.

Me parece que vemos aquí la absorción directa del ázoe y su fijación bajo forma de albúmina, demostrada con una nitidez superior aún á aquella que podría proporcionar el análisis químico. No obstante, es muy probable que con los antecedentes con que disponemos ahora, podríamos en-

contrar la demostración de la fijación del ázoe por su enriquecimiento basados sobre la acción de la gravedad.

La *espérgula* nos ha proporcionado la ocasión de hacer aún otras observaciones interesantes, pero se encontrarán expuestas mejor en su sitio á propósito de otras plantas que he estudiado á título de verificación.

(Continuará).

EL CLOROFORMO EN LA PRACTICA MEDICO VETERINARIA

El cloroformo ($C H Cl^3$) casi exclusivamente usado en las anestésias humanas, no ha esperado para lograr esta extensión, la sanción del Jury reunido en Paris á los efectos de pronunciarse por las bondades ó inconvenientes del mismo, de esto van ya 24 años lo menos, pero á pesar de ello la práctica universal de esta anestesia le ha dado su voto de confianza, y el Cloroformo como anestésico general se ha impuesto de una manera definitiva.

En la práctica Médico Veterinaria acostumbrese á usar con éxito, las anestésias por el Cloral ($C^2 Cl^3 HO, H^3 O$) sin que este ventajoso anestésico excluya la necesidad de apelar al Cloroformo en circunstancias especiales, y es del caso decir algunas palabras de la aplicación económica de este anestésico.

Es sabido el precio elevado de los cloroformos para anestesia que entre otros expéndese con las marcas de «Pictet» y «Parke Davis y Cia.» que oxilan al rededor de \$ 30.00 el kilo; sobre el precio del Cloroformo puro de la Farmacia Alemana de la casa Merk de Darmstad que es de \$ 6, más ó menos el kilo. Surge inmediatamente esta pregunta, será posible usarse sin peligro este último, contendrá impurezas perjudiciales? Yo contestaré con el análisis y la estadística.