

# Datos sobre la influencia del selenio en la vegetación cuando sustituye al ion sulfúrico en el líquido nutritivo de Knop.

Influencia del selenito sodico en la vida de los microorganismos

POR

MAX AWSCHALOM

## INTRODUCCIÓN

Parecería que ningún capítulo de la fisiología vegetal haya llamado tanto la atención de los químicos y fisiólogos, como el que trata de la importancia de la materia mineral en la vida de los vegetales. Cuando incineramos algún vegetal o algún órgano de él, ciertos elementos desaparecen bajo la forma gaseosa como el C.N.O.H, quedando solamente la materia fija (cenizas) que se compone de elementos minerales sumamente variables, desde el punto de vista cualitativo. Así, pues, analizando minuciosamente las cenizas se han encontrado los siguientes elementos: azufre, fósforo, calcio, magnesio, manganeso, hierro, sodio, litio, rubidio, arsénico, zinc, aluminio, potasio, titanio, etc.

Pero no todos estos elementos son indispensables para el buen crecimiento de los vegetales, pues los cultivos artificiales, realizados con cada uno de los elementos demostraron, que solamente una cierta cantidad de las sustancias arriba mencionadas son realmente indispensables para el buen desarrollo de los vegetales, sin los cuales resultan débiles y raquíticos. Estos elementos que siempre se encuentran en las cenizas (cualquiera sea el suelo en que crecieran los vegetales) son: azufre, fósforo, calcio, potasio, sodio, magnesio y hierro. El papel fisiológico y el valor real de los demás elementos es todavía bastante oscuro; se considera que actúan como estimulantes en mínimas cantidades. Sería, sin embargo erróneo considerar

a estos elementos como innecesarios, pues los cultivos en medios artificiales, realizados por un gran número de químicos y fisiólogos como Wiegman, Polstorff, Raulin, Bertrand, Javillier, Mazé, Stoclasa, Ehrenberg y otros, han suministrado datos preciosos al respecto, demostrando el papel funcional que desempeñan en la vida vegetal los elementos como: manganeso, hierro, zinc, aluminio, cadmio y otros.

Entre nosotros, los que se han dedicado al estudio de la fisiología vegetal, tengo que citar en primer término a mi distinguido profesor Dr. Enrique Herrero Ducloux, que hizo un estudio sobre la acción de las sales de Cobalto y Vanadio en los vegetales; el Dr. Gándara investigando la acción de la plata coloidal de Bredig y haciendo ensayos con el manganeso; el Dr. Damianovich, estudiando la influencia de las soluciones coloidales de materias colorantes sobre la germinación; la Dra. Cobanera, estudió las sales de aluminio; Ramírez, las de vanadio.

En el año 1918 hizo un estudio el compañero Jutahy Soares Telles sobre "La influencia de la flor de azufre sobre algunas plantas hortícolas, como también de algunos sulfuros y sulfatos en la vegetación", demostrando con sus ensayos que la flor de azufre ejerce una influencia benéfica en la vegetación, aumentando de una manera innegable el coeficiente de rendimiento de los vegetales cultivados. Tomando como base los resultados de sus experiencias, resolví, por indicación del Dr. Enrique Herrero Ducloux hacer un estudio acerca de la sustitución en el líquido nutritivo de Knop del ion azufre por el de selenio y sobre la influencia del selenio en la vida de los vegetales.

Este trabajo fué realizado con cuidado, tratando de anotar las variaciones que se observaban durante la vegetación.

No creo que este trabajo constituya la última palabra sobre el estudio del selenio. Más bien me inclino a pensar que para los estudiosos y para los espíritus observadores puede este trabajo servir de base para nuevos e interesantes estudios acerca de la influencia del selenito sódico



( $\text{SeO}_3\text{Na}_2$ ) para combatir la clorosis o bien continuar mis ensayos con dicha sal sobre los diferentes microorganismos.

Este estudio comprende los siguientes capítulos:

- 1) El selenio en la naturaleza.
- 2) La asimilación del selenio por los vegetales.
- 3) Influencia que ejerce el selenito sódico sobre bacilos y hongos.
- 4) Conclusiones.

Por falta de tiempo no pude hacer el análisis de los vegetales ensayados. Cuando el tiempo me lo permita, los analizaré y entonces escribiré un suplemento a este trabajo.

#### EL SELENIO EN LA NATURALEZA

El selenio fué descubierto en el año 1817 por Berzelius en el sedimento formado en las cámaras del  $\text{H}_2\text{SO}_4$  y que provenía de una fábrica existente en Gripsholm (Suecia).

El ilustre químico describe su descubrimiento de esta manera: "Yo había reunido todo el sedimento producido en la fabricación de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , no empleando durante algunos meses más que el azufre de Falhum, y después de tener juntada una cantidad grande, la sometí a un examen detallado, que me hizo descubrir un cuerpo desconocido, cuyas propiedades se asemejan a las del telurio".

"Esta analogía me determina en llamarle "selenio", de la palabra griega "selene", que significa la luna, mientras que "tellus" es el nombre de nuestro "planeta".

El selenio presenta grandes analogías con el azufre, a quien sustituye con bastante frecuencia, pero en proporciones débiles y solamente en algunos minerales sulfurados. Es así que la pirita de Falhum (Suecia), de donde Berzelius extrajo ese metaloide, encierra una cierta cantidad; igualmente se halla en las piritas de Hautmont (Nord), de Kruslitz y de Lukawitz (Bohemia), de Theux y de Oneux (Bélgica); Scheurer—Kestner y Rosenstiehl extrajeron cantidades apreciables de las piritas de Saint-Bel cerca de

Lyon; Guichard ha señalado recientemente su presencia en la molibdenita.

La calcopirita de Rammelsberg y de Anglesca contiene vestigios; la onofrita es un sulfo-seleniuro de mercurio, ( $4 \text{ HgS}$ ,  $\text{HgSe}$ ); las galenas cúbicas de Atwidaberg y de Falhum contienen pequeñas cantidades.

El selenio se ha hallado también en la lava del Vesubio y en la isla de Lipari.

La eucairita es el primer mineral selenífero que fué señalado por Berzelius; es un seleniuro doble de cobre y plata, ( $\text{Cu}_2\text{Se}$ ,  $\text{Ag}_2\text{Se}$ ); en el mismo yacimiento fué descubierto enseguida por el mismo Berzelius el seleniuro de cobre ( $\text{Cu}_2\text{Se}$ ).

Nordenskiöld descubrió más tarde la crookesita, que es un seleniuro de cobre y de talio.

En Harz se encuentra un cierto número de minerales seleníferos especialmente en: Clausthal, Tilkerote y Lehrbach; tales son la clausthalita, que es un seleniuro de plomo,  $\text{PbSe}$  (descubierto más tarde en la República Argentina); la lehrbachita, es un seleniuro de mercurio y de plomo ( $\text{HgPbSe}$ ); la tiemanita, que es un seleniuro de mercurio,  $\text{HgSe}$ ; la naumanita, que es un seleniuro de plomo descubierto por Rose al estado más o menos puro en las muestras de seleniuro de plomo de Harz oriental, pero generalmente está asociado a los seleniuros de plata y de cobre.

Se puede también señalar su presencia en los alrededores de México, de un yacimiento bastante rico en seleniuro de Bismuto  $\text{Bi}_2\text{Se}_3$ ; pero el verdadero mineral selenífero, el que se explota actualmente, es la zorgita, que es un seleniuro doble de cobre y de plomo,  $2\text{PbSe} + 9 \text{ Cu}_2\text{Se}$ , mezcla de hierro y plata y contiene hasta 30 % de Se.

En la República Argentina, en las sierras de Umango, provincia de La Rioja, fué encontrada la umangita  $\text{Cu}_2\text{Se}$ , con pequeñas cantidades de plata; este yacimiento fué encontrado en forma de filón, pero tan solo en pequeñas bolsas que pronto se agotaron en la profundidad; el mineral

que lo acompaña o sea la ganga es calcita. La explotación ha sido exígua; se calcula aproximadamente en una tonelada; se llevó a cabo el año 1905 por el señor Fontanelle; la explotación no satisfizo comercialmente. Este dato me fué suministrado por el Ingeniero Moisés Kantor.

En la Sierra de Famatina, provincia de La Rioja, fué encontrada la eucairita que es un seleniuro de cobre y de plata, CuAgSe.

En Cacheuta, provincia de Mendoza se había encontrado la cacheutita que es un poliseleniuro de plomo, plata, cobre, hierro y cobalto. Según Domeyko, contiene: plomo 43 %, plata 21 %, cobre 13 %, cobalto 3 % y selenio 20 %. Es probablemente una mezcla mecánica. En hondura el mineral se empobrecía de plata y aparecía solo la claus-thalita. Además de la claus-thalita y cacheutita se hallaba en la misma mina un seleniuro de plomo y de cobre en variables proporciones. También ha sido encontrado en la misma veta la chalcomenita que es un selenito de cobre hidratado,  $\text{SeO}_3\text{Cu} + 2\text{H}_2\text{O}$ .

#### LA ASIMILACIÓN DEL SELENIO POR LOS VEGETALES

A fin de poder apreciar debidamente el desarrollo de los vegetales en presencia de la sal seleniosa, practiqué mis ensayos en *medios líquidos* y en *macetas*, empleando para esas últimas arena lavada, exenta de azufre y compuestos sulfurados. Como líquido tipo y de comparación fué empleado el de Knop, cuya fórmula es la siguiente:

H <sub>2</sub> O . . . . .	1000 cc.
Ca (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> . . . . .	1 gr.
PO <sub>4</sub> HK <sub>2</sub> . . . . .	0,25
KNO <sub>3</sub> . . . . .	0,25
MgSO <sub>4</sub> . . . . .	0,25
FeSO <sub>4</sub> . . . . .	0,05
MnSO <sub>4</sub> . . . . .	0,05

En la fórmula de Knop he sustituido el ion sulfúrico por el de Se, haciendo al mismo tiempo dos soluciones con dosis diferentes de selenio:

SOLUCIÓN SELÉNICA A

H <sub>2</sub> O . . . . .	1000 cc.
Ca (NO <sub>3</sub> ) <sup>2</sup> . . . . .	1 gr.
PO <sub>4</sub> HK <sub>2</sub> . . . . .	0,25
KNO <sub>3</sub> . . . . .	0,25
Mg (NO <sub>3</sub> ) <sup>2</sup> . . . . .	0,25
Fe (NO <sub>3</sub> ) <sup>3</sup> . . . . .	0,05
MnCl <sub>2</sub> . . . . .	0,05
SeO <sub>2</sub> Na <sub>2</sub> . . . . .	0,3 (o sea 3 : 10.000)

SOLUCIÓN SELÉNICA B

H <sub>2</sub> O . . . . .	1000 cc.
Ca (NO <sub>3</sub> ) <sup>2</sup> . . . . .	1 gr.
PO <sub>4</sub> HK <sub>2</sub> . . . . .	0,25
KNO <sub>3</sub> . . . . .	0,25
Mg (NO <sub>3</sub> ) <sup>2</sup> . . . . .	0,25
Fe (NO <sub>3</sub> ) <sup>3</sup> . . . . .	0,05
MnCl <sub>2</sub> . . . . .	0,05
SeO <sub>2</sub> Na <sub>2</sub> . . . . .	0,1 (o sea 1 : 10.000)

Los ensayos fueron realizados en el Museo Nacional y en el laboratorio de Química Analítica de la Facultad de Agronomía de La Plata, empleando para los medios líquidos: arvejas (*Pisum Sativum*); porotos (*Phaseolus Vulgaris*) y garbanzos (*Cicer Arietinum*); en las macetas: Mirasol (*Helianthus Annuus*), mostaza blanca (*Sinapis Alba*), repollo (*Brassica Oleracea*) y rabanitos (*Raphanus Sativus*).

PRIMERA SERIE DE ENSAYOS. — ENSAYOS EN LÍQUIDOS

Los cultivos en este medio, han demostrado a los pocos días, que me hallaba en presencia de una sal sumamente tóxica para el crecimiento y desarrollo de los vegetales. Las semillas del primer vaso, previamente germinadas, que fueron colocadas en los tres vasos de ensayos, sobre algodón de vidrio, que contenían los líquidos: 1) *T* (testigo, liq. Knop) 2) *A* (Solución selenical, dosis mayor) y 3) *B* (Solución selenical, dosis menor), siguieron su curso normal de crecimiento en el primer vaso, no sucediendo lo mismo con las de los dos últimos vasos *A* y *B*; en estas, sus cotiledones empezaron a teñirse de rosado, sin experimentar el más leve crecimiento, adquiriendo los líquidos un tinte anaranjado y desprendiendo al mismo tiempo olor al  $H_2Se$ .

Al 5° día pude constatar, que las semillas en *A* y *B*, que fueron previamente germinadas, tenían sus raicillas completamente atrofiadas, sus cotiledones se habían teñido de rojo muy pronunciado; al mismo tiempo se había enturbiado el líquido nutritivo, coloreándose de rojo y desprendiendo fuerte olor al  $H_2Se$ . Las plantitas en *T*, gozando de los mismos cuidados culturales siguieron desarrollándose en forma normal: las raicillas se multiplicaban y la parte aérea tomó la coloración verde característica. Comprobada la muerte de las plantitas cultivadas en los líquidos nutritivos *A* y *B* y el crecimiento lozano y vigoroso de las en *T*, dí por terminada esta experiencia. Cuando fueron retiradas de los vasos, observé que algunas, de las sucumbidas en *T* fueron invadidas por el moho (*Penicillium Glaucum*), mientras que las plantitas sucumbidas en los líquidos *A* y *B* no lo fueron, quedando intactas a la invasión del moho. Este hecho me indujo a hacer un estudio acerca de la acción del  $SeO_3Na_2$  en la vida de los microorganismos, pensando que si el  $SeO_3Na_2$  no fuera tóxico para el *penicillium* lo hubiera invadido también.

## ENSAYOS EN MACETAS

En estas experiencias empleé arena lavada, exenta de sulfatos y compuestos sulfurados, ensayando con este fin las siguientes semillas: Mirasol, Mostaza blanca, Repollo y Rabanitos, proporcionando a todas los mismos cuidados culturales, la misma intensidad calorífica y luminosa. Esta experiencia duró 12 días solamente, porque las plantitas en *A* y *B* dejaron de crecer y empezaron a marchitarse. Cuando fueron retiradas de las macetas, observé que las plantitas de Mirasol cultivadas en el líquido *T* (Knop) tenían sus raicillas bien desarrolladas, filiformes; la parte aérea presentaba las características propias de la vegetación; ocurriendo todo lo contrario con las plantitas cultivadas en los líquidos selenicales *A* y *B*: las raíces adquirieron un color rojo herrumbre, se atrofiaron, sin ninguna ramificación; la parte aérea presentaba idéntica anomalía: las primeras hojitas o mejor dicho, los cotiledones después de haber sido absorbidos por el embrión, al aparecer sobre la arena, dejaron de crecer durante todo el tiempo de mi ensayo, tomando un tinte verde, sumamente oscuro, alcanzando apenas esta parte una altura de dos centímetros. Las crucíferas: Mostaza blanca, Repollo y Rabanitos presentaban casi la misma característica que los Mirasoles: las plantitas cultivadas en el líquido de Knop *T* tenían sus raicillas abundantes, filiformes, sumamente ramificadas, de color característico, mientras las cultivadas en los líquidos selenicales *A* y *B* tenían esta parte completamente atrofiada, sin ningún rasgo de ramificación y de color rojo oscuro. Idéntica característica se observaba con respecto a la parte aérea: las en *T*, la tenían bien desarrollada con el color verde propio de la vegetación, no sucediendo lo mismo en las cultivadas a base de los líquidos selenicales, pues las hojuelas han sido sumamente reducidas y de color verde oscuro, muy pronunciado. La debilidad y anomalía, producidas por el selenito sódico en las plantitas llegaron a tal extremo, que muchas semi-

llas germinadas ya, no pudieron desprenderse de sus envolturas, muriéndose por consiguiente.

Dí por terminada esa serie de experiencias, resolviendo hacer nuevos ensayos con los mismos vegetales, en macetas solamente, disminuyendo la dosis selenical en los líquidos nutritivos según estas fórmulas:

LÍQUIDO NUTRITIVO A

H <sub>2</sub> O . . . . .	1000 cc.
Ca (NO <sub>3</sub> ) <sup>2</sup> . . . . .	1 gr.
PO <sub>4</sub> (NH <sub>4</sub> ) <sup>3</sup> . . . . .	0,25.
KNO <sub>3</sub> . . . . .	0,40.
Mg (NO <sub>3</sub> ) <sup>2</sup> . . . . .	0,25.
Fe (NO <sub>3</sub> ) <sup>3</sup> . . . . .	0,05.
MnCl <sup>2</sup> . . . . .	0,05.
SeO <sub>3</sub> Na <sub>2</sub> . . . . .	0,05 o sea 1 : 20.000.

LÍQUIDO NUTRITIVO B

H <sub>2</sub> O . . . . .	1000 cc.
Ca (NO <sub>3</sub> ) <sup>2</sup> . . . . .	1 gr.
PO <sub>4</sub> (NH <sub>4</sub> ) <sup>3</sup> . . . . .	0,25.
KNO <sub>3</sub> . . . . .	0,40.
Mg (NO <sub>3</sub> ) <sup>2</sup> . . . . .	0,25.
MnCl <sub>2</sub> . . . . .	0,05.
Fe (NO <sub>3</sub> ) <sup>3</sup> . . . . .	0,05.
SeO <sub>3</sub> Na <sub>2</sub> . . . . .	0,025 o sea 1 : 40.000.

Guardaba siempre el líquido de Knop en calidad de testigo (T).

SEGUNDA SERIE DE EXPERIENCIAS

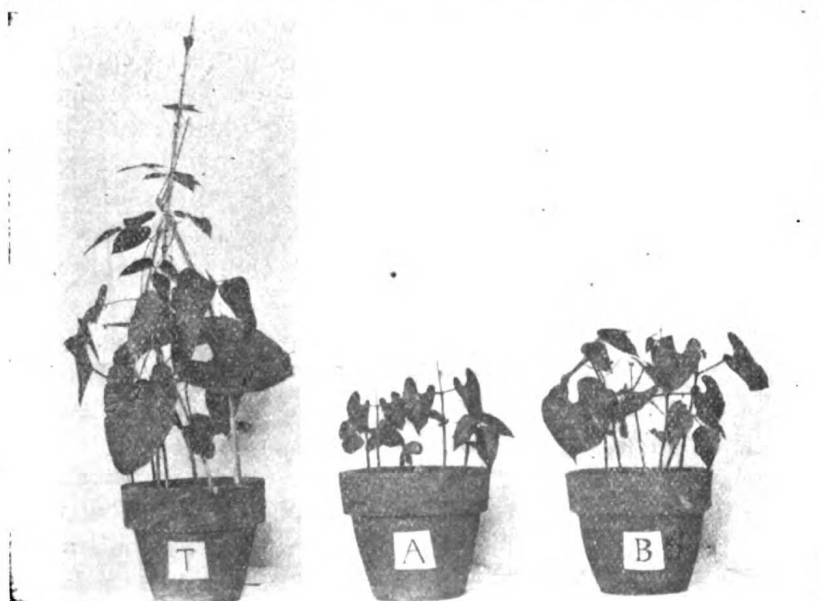
En esta serie, igual que en la anterior, traté de proporcionar los mismos cuidados culturales a todas las plantas, haciendo los ensayos solamente en macetas, empleando

con este fin arena de mar, lavada, exenta de sulfatos y de compuestos sulfurados. Fueron ensayados:

- |               |  |
|---------------|--|
| Leguminosas . | 1) Porotos ( <i>Phaseolus Vulgaris</i> ).          |
|               | 2) Arvejas ( <i>Pisum Sativum</i> ).               |
|               | 3) Garbanzos ( <i>Cicer Arietinum</i> ).           |
|               | 4) Lentejas ( <i>Ervum Lens</i> ).                 |
| Crucíferas .  | 1) Mostaza blanca ( <i>Sinapis Alba</i> ).         |
|               | 2) Repollo ( <i>Brassica Oleracea</i> ).           |
|               | 3) Rabanitos ( <i>Raphanus Sativus</i> ).          |
|               | 4) Coliflor ( <i>Brassica Oleracea Botrytis</i> ). |
| Compuestas .  | 1) Mirasol ( <i>Helianthus Annuus</i> ).           |
| Gramináceas . | 1) Maíz ( <i>Zea Maiz</i> ).                       |

Las semillas empleadas habían germinado antes de proceder a la siembra.

*Porotos*. — Durante las seis semanas que duraron mis experiencias he podido constatar la influencia enorme que



tenía la sal seleniosa sobre los vegetales. Comprobado su estancamiento vegetativo, las retiré de las macetas, anotando las siguientes características:



*Raíces.*— Las plantas cultivadas en el líquido *T* tenían sus raíces sumamente ramificadas, filiformes con pelos absorbentes, finísimos, midiendo cada raíz principal 14 cm. término medio; las cultivadas en el líquido *A* tenían las raíces muy pequeñas, atrofiadas, sin ninguna ramificación y sin pelos absorbentes, de color rojo-marrón, sumamente oscuro, midiendo cada una apenas dos cm. término medio y las raíces cultivadas en el líquido *B* eran también gruesas, emitiendo la raíz principal de trecho en trecho alguna raíz secundaria, sin pelos absorbentes y de color rojo-marrón; midiendo cada una 6 cm. término medio.

*La parte aérea* de las plantitas cultivadas en el líquido *T* se ha desarrollado normalmente, teniendo tanto las hojas como el tallo, el color verde característico, llegando la altura de cada planta a 84 cm. término medio; los talluelos de las cultivadas en el líquido *A*, presentaban una completa anomalía: eran pequeños, con hojas sumamente reducidas, teniendo el color verde muy oscuro y midiendo cada uno 12 cm. término medio, mientras las cultivadas en *B* tenían sus talluelos regularmente desarrollados, con hojas reducidas de color verde muy oscuro; cada talluelo medía 23 cm. término medio.

*Peso.*— Para conocer la influencia del selenito sódico en lo referente al peso de las plantas, elegí cinco plantas de cada una de las macetas y pesándolas obtuve el siguiente resultado:

Peso de 5 plantas en:	}	<i>T</i> 27 gr. 850
		<i>A</i> 8 „ 500
		<i>B</i> 13 „ 550

En el transcurso de la vegetación he observado que en algunas plantitas de *T* se había desarrollado la peronospora (?), mientras que en las plantitas de *A* y *B*, situadas al lado de las primeras y que gozaban de los mismos cuidados, no presentaban ni vestigio de tal enfermedad. No me atrevo a hacer aquí ninguna afirmación ni deducción al respecto, quiero dejar solamente constancia de este hecho, que fué presentado también al Dr. Carlos Spazzini para su observación.

*Arvejas.* — Esta leguminosa se desarrollaba casi de la misma manera que la anterior; las raíces en *T*, han sido ramificadas, con pelos absorbentes, midiendo cada raíz principal 14 cm. término medio; siendo las raíces en *A* gruesas y sin ramificación, atrofiadas, de color rojo herrum-



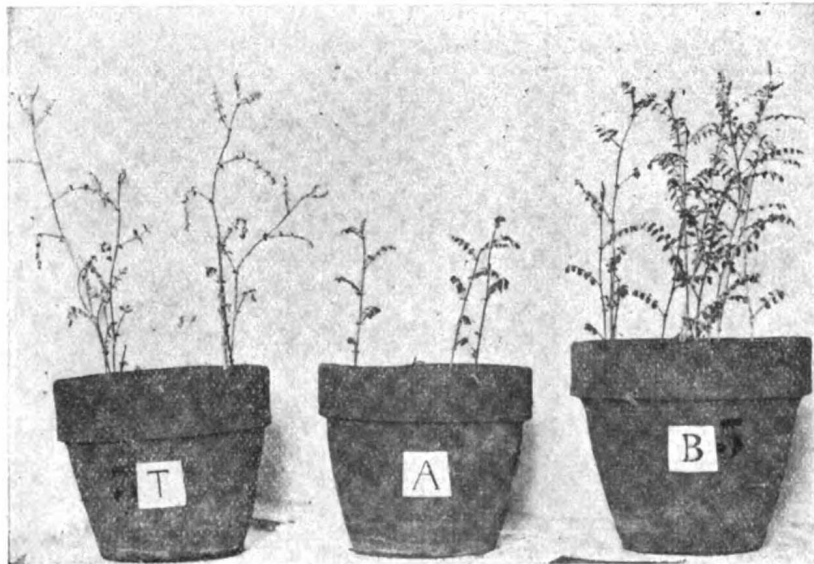
bre muy pronunciada, midiendo cada una 2 cm. apenas; las en *B* tenían las mismas características, diferenciándose en que cada raíz medía 12 cm. término medio, habiéndose ramificado a partir de los 10 cm. de la base. Esta ramificación o mejor dicho esta raíz secundaria, carecía también de pelos absorbentes. Además, al retirar las plantitas de las macetas, observé que la materia alimenticia de los cotiledones no fué absorbida por el embrión, conservándose durante seis semanas casi en perfecto estado.

La parte aérea en *T* se había desarrollado normalmente, con el color verde característico, llegando a la altura de 55 cm. término medio; les seguían en el desarrollo y altura las cultivadas en *B*, diferenciándose en el color que

era algo azulejo, teniendo su altura 52 cm.; la de *A* presentaba una anomalía: las hojas eran muy reducidas, de color azulejo pálido, midiendo cada una 28 cm. término medio.

*Peso.* — Elejí las 22 plantas mejor desarrolladas que pesaban con sus raicillas:

Peso de 22 plantas con raíces en:	}	<i>T</i> 52 gr.
		<i>A</i> 26 .. 250
		<i>B</i> 41 .. 200

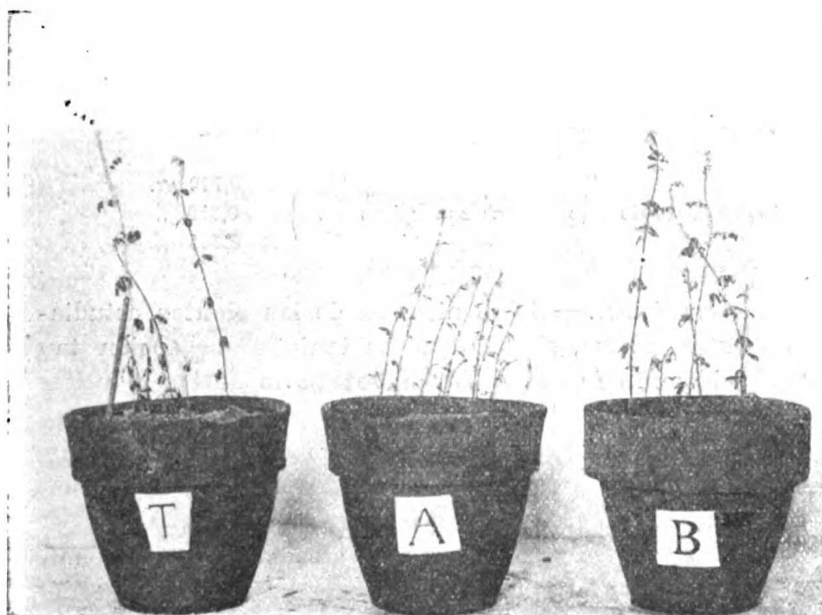


*Garbanzos.* — Sobre estos vegetales la sal seleniosa tenía también una enorme influencia. Las raíces en *T* eran sumamente ramificadas, con raicillas secundarias y terciarias filiformes, midiendo cada una 14 cm. término medio; les seguían en desarrollo las raíces cultivadas en *B*, con 11 cm. término medio, siendo gruesas, con raíces secundarias y terciarias gruesas también y exentas de pelos absorbentes; las ramificaciones secundarias habían empezado a los 5 cm. de la base. Las de *A* presentaban un estado anómalo completo: medían 2 cms. apenas, sin ramificación, atrofiadas y de color rojo herrumbre muy pro-

nunciado. En la *parte aérea* se observaba idéntica influencia: en *T* se había desarrollado normalmente, con el tinte verde característico, midiendo 38 cm. de altura término medio; las cultivadas en *B* tenían buen desarrollo midiendo 33 cm. cada una término medio, con una coloración pálida. En *A* el desarrollo era bastante precario, llegando a la altura de 19 cm. con su coloración pálido mate muy pronunciada.

*Peso.* — Como en los casos anteriores elegí las 3 plantitas más desarrolladas, de cada una de las macetas y pesándolas obtuve el siguiente resultado:

Peso de 3 plantas con las raíces en:	}	<i>T</i> 4,550 gr.
		<i>A</i> 1,850 „
		<i>B</i> 4,050 „



*Lentejas.* — Tampoco escaparon las lentejas a la acción funesta del  $\text{SeO}_3\text{Na}_2$ . Esto se pudo comprobar fácilmente, al retirar las plantitas de las macetas. Así, las raíces que se habían nutrido con la solución *T* se habían

ramificado abundantemente, con raíces secundarias y terciarias filiformes y con pelos absorbentes, midiendo cada una término medio 12 cm.; las cultivadas en el líquido *A* eran gruesas, atrofiadas, sin ninguna ramificación, de color rojo oscuro, midiendo cada una apenas 2 cm.; las de *B*, tenían casi las mismas características que las de *A*, midiendo cada una 7 cm., término medio. La misma influencia se observaba en la parte aérea de los vegetales: en *T*, esta se había desarrollado lozanamente, con el tinte propio, llegando su altura a 25 cm; la de *B* también se desarrolló normalmente, diferenciándose en el color, que era verde oscuro, siendo su altura 22 cm., término medio; mientras que en *A* esta parte sufrió un retardamiento completo en su crecimiento y desarrollo; medía 12 cm. de altura, término medio, teniendo un tinte verde sumamente oscuro.

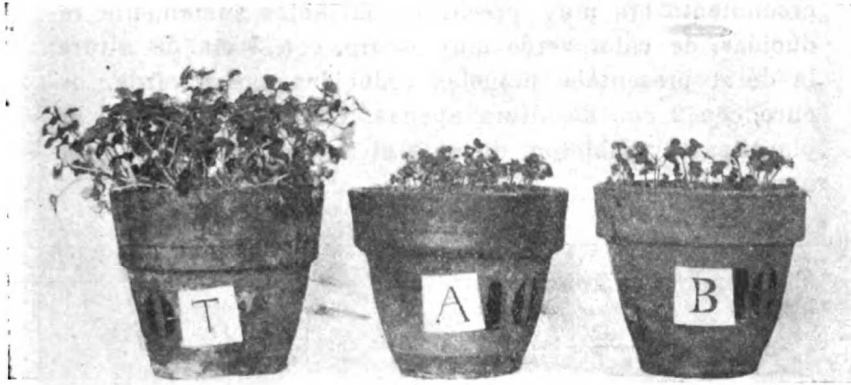
*Peso.*— De cada maceta elejí las tres plantas más desarrolladas y obtuve el siguiente resultado:

Peso de tres plantas con raíces en:  $\left\{ \begin{array}{l} T \text{ 0,760 gr.} \\ A \text{ 0,350 „} \\ B \text{ 0,735 „} \end{array} \right.$

*Las crucíferas.*— Sobre ninguna de las plantas estudiadas hasta ahora, el  $\text{SeO}_3\text{Na}_2$  ha tenido una acción tan marcadamente funesta. La mayor parte de las plantitas sembradas sucumbieron, dando una vegetación raquítica las demás. Las fotografías que siguen nos dan la idea perfecta respecto a su crecimiento y desarrollo. Citaré solamente los datos más característicos observados.

*Mostaza blanca.*— Raíces en *T* bien desarrolladas midiendo 15 cm., término medio; las de *A* sumamente pequeñas, sin ramificación, atrofiadas, de color rojo oscuro, midiendo cada una apenas 1 cm.; las de *B* tenían las mismas características que las de *A*, diferenciándose en la longitud, pues eran de 7 cm. Parte aérea en *T*, desarrollo lozano, altura 10 cm., color de las hojas verde característico; en *A* era precaria, con hojas muy reducidas de color

verde sumamente oscuro, altura 4 cm.; mientras en *B* tenía las mismas características que en *A*, siendo su altura de 5 cm.



*Peso.*— Pesé 25 plantitas con sus raicillas obteniendo el siguiente resultado:

Peso de 25 plantitas en:  $\left\{ \begin{array}{l} T \text{ 6,200 gr.} \\ A \text{ 1,180 ,,} \\ B \text{ 2,050 ,,} \end{array} \right.$

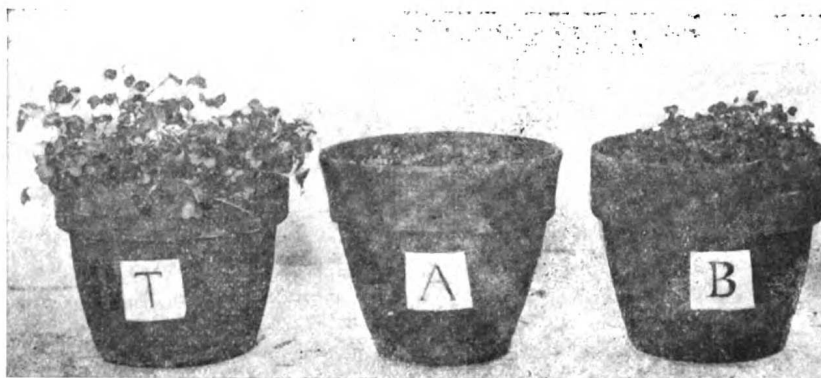


*Coliflor.*— *Raicillas:* en *T* abundantes y bien desarrolladas, midiendo cada una 7 cm., término medio; las de *A* eran gruesas, atrofiadas, de color rojo marrón oscuro, midiendo apenas medio cm.; las características de las de *A*

se observaban perfectamente en las de *B*, con la diferencia de que la longitud era de 3 cm., término medio. La *parte aérea* en *T* era normalmente desarrollada, color verde característico, siendo su altura de nueve cm.; en la *B* el crecimiento era muy precario, con hojas sumamente reducidas, de color verde muy oscuro, con 5 cm. de altura; la de *A* presentaba hojuelas reducidas, color verde, oscuro, con 2 cm. de altura apenas. La mayor parte de las plantitas sucumbieron durante el cultivo, quedando solamente 4.

*Peso.* — Pesé 4 plantitas de cada una de las macetas obteniendo el siguiente resultado:

Peso de 4 plantitas con sus raíces en:	{	<i>T</i>	0,620 gr.
		<i>A</i>	0,070 „
		<i>B</i>	0,340 „



*Repollo.* — Idéntica influencia se observaba sobre el repollo. Las raíces en *T* se habían desarrollado bien, mientras las de *A* y *B* eran pequeñas, atrofiadas, sin pelos absorbentes, de color rojo-herrumbre oscuro, midiendo respectivamente 1 y 2 cm. término medio. La *parte aérea* en *T* ha sido lozana, con tinte verde propio, altura 12 cm., no sucediendo lo mismo en *A* y *B*, porque era sumamente reducida, de color verde marcadamente oscuro, llegando a la altura de 3 y 5 cm., respectivamente término medio.

*Peso.*— Pesé 12 plantitas de cada maceta obteniendo el siguiente resultado:

Peso de 12 plantitas en:  $\left\{ \begin{array}{l} T \text{ 2,800 gr.} \\ A \text{ 0,550 „} \\ B \text{ 1,250 „} \end{array} \right.$



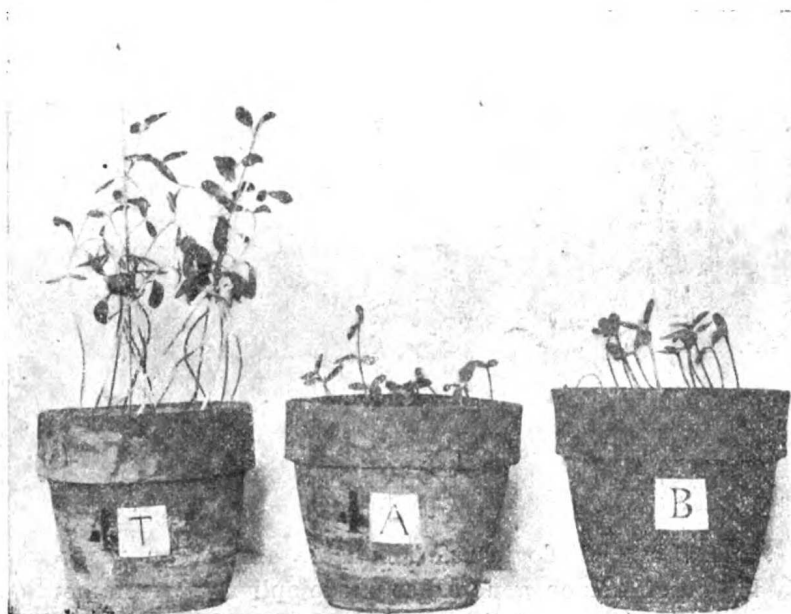
*Rabanitos.*— Todo lo referido hasta ahora con respecto a las crucíferas en general, se puede aplicar perfectamente a los rabanitos. La influencia ha sido de tal magnitud, que casi todas las plantitas sucumbieron, quedando solamente 3 o 4 en las macetas *A* y *B*. La fotografía adjunta demuestra de una manera clara y evidente esta influencia en la vida de los vegetales.

*Mirasol.*— También el mirasol sufrió una acción retardatriz en presencia de la sal de selenio. Así, las raíces en *T* eran abundantes, filiformes, midiendo cada una 13 cm. de longitud; las de *A* eran completamente atrofiadas, sin pelos absorbentes, color rojo oscuro, de 1 cm. de longitud; las de *B* tenían raíces secundarias, gruesas, sin pelos absorbentes, de color rojo-herrumbre, midiendo 3 cm. de longitud.

*Parte aérea.*— Desarrollo lozano en *T*, con tinte verde característico, llegando su altura a 32 cm. término medio, mientras las de *A* y *B* demostraban que la sal seleniosa, es perniciosa en sumo grado para su crecimiento; ésta



parte medía 7 cm. y 10 cm. respectivamente con tinte verde sumamente oscuro, poseyendo cada plantita dos hojuelas o sea los cotiledones transformados.



El *peso* de las plantitas confirma la influencia funesta del selenio. Pesando 12 plantitas de cada una de las macetas obtuve el siguiente resultado:

Peso de las 12 plantitas en:  $\left. \begin{array}{l} T \quad 21 \text{ gr.} \\ A \quad 5 \text{ ,,} \\ B \quad 9,500 \end{array} \right\}$

*Maíz.* — Pude observar en estas plantitas, después de seis semanas de cultivo, que *las raíces* en *T* se habían desarrollado normalmente, midiendo cada raíz principal 20 cm. término medio; las de *A*, pequeñas, sin raicillas secundarias ni pelos absorbentes, de color rojo-herrumbre, de 7 cm. de longitud; las de *B* gruesas, apenas ramificadas, de color rojizo, medían 15 cm.

La parte aérea presentaba la misma característica. En *T* el desarrollo era normal, alcanzando a 60 cm. de altura; mientras en *A* y *B* llegaban a la altura de 42 y 50 cm. respectivamente, siendo sus hojas algo reducidas.



El peso de 4 plantas de cada una de las macetas arrojó el siguiente resultado:

Peso de 4 plantas:	}	<i>T</i> 11 gr. 250
		<i>A</i> 6 „ 100
		<i>B</i> 7 „ 200

PLANTAS	Parte Aérea en cms.			Raíz en cms.			Peso en grms.			Cantidad de plantas pesadas
	T	A	B	T	A	B	T	A	B	
1. Porotos ( <i>Phaseolus Vulgaris</i> )	84	12	23	14	2	6	27,500	8,500	13,550	5
2. Arvejas ( <i>Pisum Sativum L.</i> )	55	28	52	14	2	12	52,—	26,250	41,200	22
3. Garbanzos ( <i>Cicer Arietinum L.</i> )	38	19	33	14	2	11	4,550	1,850	4,050	3
4. Lentejas ( <i>Ercum Lens L.</i> )	25	12	22	12	2	7	0,760	0,350	0,735	3
5. Mostaza Blanca ( <i>Sinapis Albn</i> )	10	4	5	15	1	7	6,200	1,180	2,050	25
6. Coliflor ( <i>Brassica Olerícea Botrytis</i> )	9	2	5	7	1/3	3	0,620	0,070	0,340	4
7. Repollo ( <i>Brassica Olerícea</i> )	12	3	5	6	1	3	2,800	0,550	1,250	12
8. Mirasol ( <i>Helianthus Annum L.</i> )	32	7	10	13	1	3	21,—	5,—	9,500	12
9. Maíz ( <i>Zea Maíz L.</i> )	60	42	50	20	7	15	11,250	6,100	7,200	4

### LA ACCIÓN DEL SELENIO SOBRE LOS MICROORGANISMOS

En los ensayos *in vitro* que realizaba, observé que las arvejas cultivadas en el líquido nutritivo de Knop, carente de selenio, al morir fueron invadidas por el moho (*Penicillium Glaucum*), mientras que la misma clase de arvejas, que gozaban de la misma intensidad carolífica y luminosa y nutriéndose del líquido Knop, en el cual el azufre fué sustituido por el selenio, al morir, quedaban como antes, sin ser invadidas por dicho moho. Este hecho llamó mi atención y resolví hacer un estudio acerca de la acción del selenito sódico sobre la vida de los microorganismos. Consultada la opinión del Dr. Carlos Spegazzini sobre la naturaleza y conveniencia de tal investigación como también acerca de su importancia, resolví iniciar en el laboratorio que dirige el Dr. Alfredo C. Marchisotti mis experiencias, en el orden bacteriológico, haciendo uso de los microorganismos siguientes:

- 1) *Bacillus Liquefaciens Fluorescente.*
- 2) „ „ *Paratífico A.*
- 3) „ „ *Paratífico B.*
- 4) „ „ *Coli común.*
- 5) „ „ *Anthraxis.*
- 6) „ „ *Tífico.*
- 7) „ „ *de la Tuberculosis humana.*
- 8) „ „ „ „ *bovina.*
- 9) „ „ „ „ *aviaria.*
- 10) „ „ „ *Loeffer (difteria).*
- 11) „ „ „ *Peste Bubónica.*
- 12) *Stafilococo Dorado.*
- 13) „ „ *Blanco.*
- 14) *Levadura Vinica*
- 15) „ „ *de cerveza* } *Saccharomycetas.*
- 16) „ „ „ *Gibson* }
- 17) *Penicillium Glaucum* } *H. Saprófitos*
- 18) *Sterigmatocystis Nigra* }

Todas las experiencias fueron realizadas a base de medios minerales y orgánicos; entre los primeros, los líquidos de Blanchetiere y de Cohn y entre los segundos, el caldo peptonizado al 2 % y el mosto malta.

#### PREPARACIÓN DEL LÍQUIDO BLANCHETIERE

A 900 cc. de H<sub>2</sub>O destilada, agréguese 5 gr. de NaCl, 1 gr. de PO<sub>4</sub>HNa<sub>2</sub>; 1 gr. de PO<sub>4</sub>K<sub>3</sub>; 3 gr. de Asparagina. disolviendo todo y esterilizando a 115° C. durante 30 min;

#### PREPARACIÓN DEL LÍQUIDO COHN

Agua destilada . . . . .	1000 cc.;
Tartrato amonico . . . . .	10 gr.
PO <sub>4</sub> K <sub>3</sub> . . . . .	5 "
MgSO <sub>4</sub> . . . . .	5 "
(PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> Ca <sub>3</sub> . . . . .	0.5 "

Disolviendo todo y esterilizando a 115° C. durante 30 minutos.

#### PREPARACIÓN DEL CALDO PEPTONIZADO

A 1000 cc. de agua, agréguese 500 gr. de carne picada, despojada de grasas, tendones y aponeurosis. Después de llevar a ebullición durante 10 minutos, se filtra primeramente sobre un lienzo de cocina, se agrega 2 % de peptona y 0.5 % de cloruro de sodio. Disuelta la peptona, se alcaliniza ligeramente por el hidrato sódico, y se precipitan los fosfatos terrosos llevando al autoclave al 120° C. durante media hora. Se filtra sobre papel Chardain, se reintegra volumen con agua destilada y se esteriliza 20 minutos a 115° C.

#### PREPARACIÓN DEL MOSTO MALTA

A 300 grs. de malta molida, agréguese 1000 cc. de agua calentada a 40° C. y manténgase en contacto, removiendo intermitentemente durante dos horas. Elévase y manténgase el mismo tiempo a la temperatura de 60 a 70° C., a efecto de que la diastasas puedan actuar eficazmente. Cuando la transformación del almidón es completa, lo que

se revela por la acción del yodo, filtrese sobre un lienzo y agréguese 0,15 % de ácido tartárico y 25 % de azúcar. Luego se esteriliza a 115° C. durante 20 minutos.

Estos líquidos nutritivos fueron divididos en cuatro porciones. guardando una en calidad de testigo y a las tres restantes agregué respectivamente: 0,05 por mil, 0,1 por mil y 0,3 por mil de selenito sódico, ya pasteurizada a la temperatura de 85° C. durante 2 horas, con el propósito de no someter la sal selénica a la acción de temperaturas elevadas porque se descomponía.

EL CULTIVO DE LOS MICROORGANISMOS EN EL LÍQUIDO NUTRITIVO BLANCHETIERE

En este medio se han sembrado los siguientes microorganismos:

1) *Bacillus Liquefaciens Fluorescente*; 2) *Bac. Paratífico B*; 3) *Levadura rínica*; 4) *Penicillium Glaucum*, obteniéndose el siguiente resultado:

1 <i>Bacillus Liquefaciens Fluorescente</i>		
Fecha de la siembra	Medio nutritivo Blanchetiere	Desarrollo
1919. Diciembre 23	1) Normal	Negativo
	2) „ 0,05 % de $\text{SeO}_3\text{Na}_2$	„
	3) „ 0,1 „ „ „	„
	4) „ 0,3 „ „ „	„
2 <i>Bacillus Paratífico B.</i>		
Fecha de la siembra	Medio nutritivo Blanchetiere	Desarrollo
1919. Diciembre 23	1) Normal	Negativo
	2) „ 0,05 % de $\text{SeO}_3\text{Na}_2$	„
	3) „ 0,1 „ „ „	„
	4) „ 0,3 „ „ „	„

3

*Levadura Vinica*

Fecha de la siembra	Medio nutritivo Blanchetiere	Desarrollo
1919. Diciembre 23	1) Normal	Negativo
	2) „ 0,05 % de $\text{SeO}_3\text{Na}_2$	„
	3) „ 0,1 „ „ „	„
	4) „ 0,3 „ „ „	„

4

*Penicillium Glaucum*

Fecha de la siembra	Medio nutritivo Blanchetiere	Desarrollo
1919. Diciembre 23	1) Normal	Abundante
	2) „ 0,05 % de $\text{SeO}_3\text{Na}_2$	Menor
	3) „ 0,1 „ „ „	Pequeño
	4) „ 0,3 „ „ „	Insignificante

El 30 de Diciembre, después de resembrar varias veces, dí por terminado mi ensayo arribando a la siguiente conclusión: los *Bacillus Liquefaciens Fluorescente*, *Paratifico B* y la *Levadura Vinica* no se desarrollaban en el líquido nutritivo Blanchetiere, tanto en el normal como en los demás que contenían la sal selénica, hecho que no podía llamarnos la atención puesto, que las bacteriaceas se desarrollan muy difícilmente en los medios minerales. El *Penicillium Glaucum* se desarrolla bien en el líquido normal, decreciendo su desarrollo a medida que aumenta la dosis de la sal selénica agregada. En el tubo que contenía  $\text{SeO}_3\text{Na}_2$  en la proporción de 0,3 por mil, el desarrollo del *Penicillium Glaucum* ha sido casi insignificante, observándose además que el micelio, en todos los tubos que tenían la sal selénica, había adquirido un color rosado que aumentaba de intensidad hasta el último tubo.

CULTIVO DE LOS MICROORGANISMOS EN EL LÍQUIDO  
NUTRITIVO DE COHN

En este medio cultivé los siguientes microorganismos:  
1) *Bac. Tífico*; 2) *Bac. Paratífico B*; 3) *Bac. Coli común*; 4) *Bac. Anthracis*; 5) *Stafilococo blanco*; 6) *Levadura Vinica*; 7) *Penicillium Glaucum*; con el siguiente resultado:

5 *Bacillus Tífico*

Fecha de la siembra	Medio nutritivo; Liq. Cohn	Desarrollo
1920. Enero 6	1) Normal	Negativo
	2) „ 0,05 % de $SeO_3Na_2$	„
	3) „ 0,1 „ „ „	„
	4) „ 0,3 „ „ „	„

6 *Bacillus Paratífico B.*

Fecha de la siembra	Medio nutritivo; Liq. Cohn	Desarrollo
1920. Enero 6	1) Normal	Negativo
	2) „ 0,05 % de $SeO_3Na_2$	„
	3) „ 0,1 „ „ „	„
	4) „ 0,3 „ „ „	„

7 *Bacillus Coli común*

Fecha de la siembra	Medio nutritivo; Liq. Cohn	Desarrollo
1920. Enero 6	1) Normal	Negativo
	2) „ 0,05 % de $SeO_3Na_2$	„
	3) „ 0,1 „ „ „	„
	4) „ 0,3 „ „ „	„



8 *Bacillus Anthracis*

Fecha de la siembra	Medio nutritivo; Liq. Cohn	Desarrollo
1920. Enero 6	1) Normal	Negativo
	2) .. 0,05 ‰ de SeO <sub>3</sub> Na <sub>2</sub>	..
	3) .. 0,1 .. ..	..
	4) .. 0,3 .. ..	..

9 *Stafilococo blanco*

Fecha de la siembra	Medio nutritivo; Liq. Cohn	Desarrollo
1920. Enero 6	1) Normal	Negativo
	2) .. 0,05 ‰ de SeO <sub>3</sub> Na <sub>2</sub>	..
	3) .. 0,1 .. ..	..
	4) .. 0,3 .. ..	..

10 *Levadura Vinica*

Fecha de la siembra	Medio nutritivo; Liq. Cohn	Desarrollo
1920. Enero 6	1) Normal	Negativo
	2) .. 0,05 ‰ de SeO <sub>3</sub> Na <sub>2</sub>	..
	3) .. 0,1 .. ..	..
	4) .. 0,3 .. ..	..

11 *Penicillium Glaucum*

Fecha de la siembra	Medio nutritivo; Liq. Cohn	Desarrollo
1920. Enero 6	1) Normal	Abundante
	2) .. 0,05 ‰ de SeO <sub>3</sub> Na <sub>2</sub>	Menor
	3) .. 0,1 .. ..	Pequeño
	4) .. 0,3 .. ..	Insignificante

Como se ve en el medio nutritivo de Cohn se ha desarrollado solamente el *Penicillium Glaucum*, presentando la misma característica que el cultivado en el líquido nutritivo de Blanchetiere. Mientras en el tubo normal se observa un desarrollo completo, se comprueba todo lo contrario con respecto a los demás tubos, que contenían la sal seleniosa, pues, a medida que la dosis de la sal aumentaba, su desarrollo decrecía. Además, en todos los tubos que contenían el  $\text{SeO}_3\text{Na}_2$ , el micelio tenía color rosado, adquiriendo mayor intensidad en el tubo al 0,3 por mil. Los demás microbios no se desarrollaban en este medio, lo que se explica perfectamente por ser un medio de cultivo poco adecuado para el desarrollo de las *bacteriáceas*.

#### EL CULTIVO DE MICROORGANISMOS EN EL CALDO PEPTONIZADO

Preparado y repartido el caldo peptonizado en cuatro porciones, guardé una de éstas en calidad de testigo y a las tres restantes agregué respectivamente el  $\text{SeO}_3\text{Na}_2$  al: 0,05 por mil; 0,1 por mil y 0,3 por mil, esterilizando todo a la temperatura de 115° C. durante 30 minutos. Repartidos los líquidos en los tubos procedí, al ensayo de los siguientes microorganismos: 1) *Bac. Liquefaciens Fluorescente*; 2) *Bac. Coli* común (origen bovino); 3) *Bac. Paratífico B*; 4) *Bac. Tífico*; 5) *Bac. Anthracis* (origen equino); 6) *Stafilococo* dorado; 7) *Stafilococo* blanco, con el siguiente resultado:

12		<i>Bacillus Liquefaciens Fluorescente</i>		
Fecha de la siembra	Medio nutritivo; caldo peptonizado			Desarrollo
1920. Enero 7	1) Normal			Positivo
	2) „ 0,05 % de $\text{SeO}_3\text{Na}_2$			Id color lig. rosado
	3) „ 0,1 „ „ „			Id id id
	4) „ 0,3 „ „ „			Id id rojo

13 *Bacillus Cok común*

Fecha de la siembra	Medio nutritivo; caldo peptonizado	Desarrollo
1920. Enero 7	1) Normal	Positivo
	2) „ 0,05 % de $SeO_3Na_2$	Id color lig. rosado
	3) „ 0,1 „ „ „	Id id id
	4) „ 0,3 „ „ „	Id id rojo

14 *Bacillus Paratífico B.*

Fecha de la siembra	Medio nutritivo; caldo peptonizado	Desarrollo
1920. Enero 7	1) Normal	Positivo
	2) „ 0,05 % de $SeO_3Na_2$	Id color lig. rosado
	3) „ 0,1 „ „ „	Id id id
	4) „ 0,3 „ „ „	Id id rojo

15 *Bacillus Tífico*

Fecha de la siembra	Medio nutritivo; caldo peptonizado	Desarrollo
1920. Enero 7	1) Normal	Positivo
	2) „ 0,05 % de $SeO_3Na_2$	Id color rosado
	3) „ 0,1 „ „ „	„ „ „
	4) „ 0,3 „ „ „	Id id rojo

16 *Bacillus Anthracis*

Fecha de la siembra	Medio nutritivo; caldo peptonizado	Desarrollo
1920. Enero 7	1) Normal	Positivo
	2) „ 0,05 % de $SeO_3Na_2$	Id color rosado
	3) „ 0,1 „ „ „	„ „ „
	4) „ 0,3 „ „ „	Id id id intenso

17 *Stafilococo dorado*

Fecha de la siembra	Medio nutritivo: caldo peptonizado	Desarrollo
1920. Enero 7	1) Normal	Positivo
	2) .. 0,05 % de $\text{SeO}_3\text{Na}_2$	Id color rosado
	3) .. 0,1 .. ..	" " "
	4) .. 0,3 .. ..	Id id rojo

18 *Stafilococo blanco*

Fecha de la siembra	Medio nutritivo: caldo peptonizado	Desarrollo
1920. Enero 7	1) Normal	Positivo
	2) .. 0,05 % de $\text{SeO}_3\text{Na}_2$	Id color rosado
	3) .. 0,1 .. ..	" " "
	4) .. 0,3 .. ..	Id id rojo

El 11 del corriente dí por terminada esta experiencia. observándose que hubo desarrollo en todos los tubos y mientras en los dos primeros, el cultivo se efectuaba con los caracteres ordinarios, los últimos dos adquirían color rosado que viraba francamente al rojo ladrillo en los tubos de mayor dosis de  $\text{SeO}_3\text{Na}_2$ .

Como después de esterilizar el caldo peptonizado con el selenito sódico, quedó un pequeño depósito de color rojo, para tener mayor certeza sobre la inalterabilidad de los medios con que trabajaba, resolví repetir la operación, esterilizando solamente el caldo peptonizado y pasteurizando separadamente soluciones conocidas de selenito sódico, a la temperatura de 85° C. durante dos horas, para evitar de esa manera la descomposición. La cantidad de sal correspondiente a 200 cm<sup>3</sup>, fué disuelta en 10 cc. de H<sub>2</sub>O destilada, la que después de pasteurizada, fué adicionada asepticamente a los 190 cc. del caldo peptonizado ya esterilizado. En esta experiencia resolví emplear una porción

más concentrada de selenito sódico y que alcanzara al 1 por mil.

Procedí luego al ensayo con los siguientes microbios: 1) *Bac. Liq. Fluorescente*; 2) *Bac. Coli* común (origen bovino); 3) *Bac. Paratífico A*; 4) *Bac. Paratífico B*; 5) *Bac. Anthracis*; 6) *Bac. Tífico*; 7) *Stafilococo* dorado; 8) *Stafilococo* blanco, obteniendo los resultados siguientes:

19) *Bacillus Liquefaciens Fluorescente*

Fecha de la siembra	Medio nutritivo; caldo peptonizado	Desarrollo
1920. Enero 14	1. Normal	Positivo
	2. „ 0,05 % de $\text{SeO}_3\text{Na}_2$	Id color lig. rosado
	3. „ 0,1 „ „ „	Id id id
	4. „ 0,3 „ „ „	Id id rojo
	5. „ 1 „ „ „	Id id rojo oscuro

20) *Bacillus Coli común*

Fecha de la siembra	Medio nutritivo; caldo peptonizado	Desarrollo
1920. Enero 14	1. Normal	Positivo
	2. „ 0,05 % de $\text{SeO}_3\text{Na}_2$	Id color lig. rosado
	3. „ 0,1 „ „ „	Id id id
	4. „ 0,3 „ „ „	Id id rojo
	5. „ 1 „ „ „	Id id rojo oscuro

21) *Bacillus Paratífico A.*

Fecha de la siembra	Medio nutritivo; caldo peptonizado	Desarrollo
1920. Enero 14	1. Normal	Positivo
	2. „ 0,05 % de $\text{SeO}_3\text{Na}_2$	Id color lig. rosado
	3. „ 0,1 „ „ „	id id id
	4. „ 0,3 „ „ „	Id id rojo
	5. „ 1 „ „ „	Id id rojo oscuro

22

*Bacillus Paratífico B.*

Fecha de la siembra	Medio nutritivo: caldo peptonizado	Desarrollo
1920. Enero 14	1. Normal	Positivo
	2. „ 0,05 % de $\text{SeO}_3\text{Na}_2$	Id color lig. rosado
	3. „ 0,1 „ „ „	Id id id
	4. „ 0,3 „ „ „	Id id rojo
	5. „ 1 „ „ „	Id id rojo oscuro

23

*Bacillus Anthracis*

Fecha de la siembra	Medio nutritivo: caldo peptonizado	Desarrollo
1920. Enero 14	1. Normal	Positivo
	2. „ 0,05 % de $\text{SeO}_3\text{Na}_2$	Id color lig. rosado
	3. „ 0,1 „ „ „	Id id id
	4. „ 0,3 „ „ „	Id id rojo
	5. „ 1 „ „ „	Id id rojo oscuro

24

*Bacillus Tífico*

Fecha de la siembra	Medio nutritivo; caldo peptonizado	Desarrollo
1920. Enero 14	1. Normal	Positivo
	2. „ 0,05 % de $\text{SeO}_3\text{Na}_2$	Id color lig. rosado
	3. „ 0,1 „ „ „	Id id id
	4. „ 0,3 „ „ „	Id id rojo
	5. „ 1 „ „ „	Id id rojo oscuro

25

*Stafilococo dorado*

Fecha de la siembra	Medio nutritivo; caldo peptonizado	Desarrollo
1920. Enero 14	1. Normal	Positivo
	2. „ 0,05 ‰ de $SeO_3Na_2$	Id color lig. rosado
	3. „ 0,1 „ „ „	Id id id
	4. „ 0,3 „ „ „	Id id rojo
	5. „ 1 „ „ „	Id id rojo oscuro

26

*Stafilocoto blanco*

Fecha de la siembra	Medio nutritivo; caldo peptonizado	Desarrollo
1920. Enero 14	1. Normal	Positivo
	2. „ 0,05 ‰ de $SeO_3Na_2$	Id color lig. rosado
	3. „ 0,1 „ „ „	Id id id
	4. „ 0,3 „ „ „	Id id rojo
	5. „ 1 „ „ „	Id id rojo oscuro

Los ensayos nos habían demostrado que el *Bac. Liquefaciens Fluorescente* se desarrolló en todos los tubos presentando las siguientes características: en los tres primeros tubos el grado de desarrollo era más o menos igual, teniendo la coloración propia de los cultivos de este germen, mientras que en el tubo con 0,3 por mil de  $SeO_3Na_2$  su desarrollo había disminuído sensiblemente, coloreándose de rojo más o menos intenso. En el tubo que contenía  $SeO_3Na_2$  al 1 por mil tenía casi el mismo grado de desarrollo que en el tubo anterior, pero se observaba al mismo tiempo, que el cultivo se había coloreado uniformemente, tomando color rojo-ladrillo muy intenso.

El *Bacillus Coli común*, se desarrolla en todos los tubos. En los tres primeros no se observaba ninguna variación

de color. En el tubo con  $\text{SeO}_3\text{Na}_2$  al 0,3 por mil se había coloreado de rojo sangre, aumentando la intensidad de la coloración en el tubo con selenito sódico al 1 por mil.

El *Stafilococo Dorado* se había desarrollado en todos los tubos. En el tubo normal, no se observaba modificaciones de coloración, mientras que, en los 4 tubos restantes, conteniendo selenito sódico, el micrococo había tomado un tinte ligeramente rosado.

El *Stafilococo Blanco* se había desarrollado en todos los tubos, observándose más desarrollo en los tres primeros. En los dos últimos tubos, el desarrollo había disminuido marcadamente, tomando el color rojo-herrumbre observado con otros gérmenes. Además, presentaba un depósito del mismo color y de aspecto pulverulento.

El *Bacillus Paratífico A.* se había desarrollado en todos los tubos. En el tubo normal no se veía ninguna variación y el cultivo tenía, su aspecto y color característicos, mientras que, en los 4 últimos tubos, el cultivo se había coloreado de rojo, cuya intensidad aumentaba proporcionalmente con la dosis de  $\text{SeO}_3\text{Na}_2$  que se había agregado.

El *Bacillus Paratífico B.* presentaba la misma característica que el Paratífico A. En el tubo normal, el cultivo no presentaba ninguna variación, mientras que en los 4 últimos tubos el medio se había teñido de rojo, siendo esta coloración tanto más intensa, cuanto mayor ha sido la dosis del  $\text{SeO}_3\text{Na}_2$  que se había agregado.

El *Bacillus Anthracis*, se desarrolló perfectamente en todos los tubos; en los tres primeros no se observaba ningún cambio, mientras que en los dos tubos últimos tomó la coloración roja, ya observada con otros gérmenes, pero en este caso con menos intensidad.

Con el propósito de averiguar si el *Bacillus Anthracis* cultivado en medio selénico, atenuaba su virulencia, sembré este germen y después de haberlo cultivado durante 14 días a  $37^\circ\text{C}$  en medio selénico al 0,3 por mil y al 1 por mil, hice con él un trasplante a caldo peptonizado, que desarrollóse perfectamente y con el cual inyecté ( $\frac{1}{4}$  cc.) a



dos cobayos, cuyo peso variaba entre 380 a 400 grs. cada uno.

Los cobayos murieron a las 48 horas de ser inyectados. Esta experiencia, realizada con un germen esporulivo, no es suficiente, indudablemente para sacar de allí una conclusión, sobre la acción del selenio respecto a la virulencia del germen en cuestión.

Sería necesario, repetir estas investigaciones y buscar la forma de que la sal actuara sobre las formas vegetativas del microbio, puesto que la spora es difícilmente influenciada.

En todos los tubos sembrados con el bacilo tífico, hubo desarrollo más o menos igual, diferenciándose los cuatro tubos que contenían el  $\text{SeO}_3\text{Na}_2$  por su color rojizo que había adquirido el cultivo. Dicho color aumentaba de intensidad según la mayor o menor dosis de selenito sódico que se había agregado.

Habiendo observado el color rojo ladrillo intensamente pronunciado de los cultivos de: Paratífico *A* y *B*; Coli común y Tífico, volví a resembrarlos en tubos con agar-agar, a fin de cerciorarme, si se trataba de un microbio cromógeno, cuyo desarrollo fuera favorecido por la sal selénica o si trataba de un fenómeno nuevo debido a la presencia de la referida sal. Esto gérmenes se desarrollaron en forma normal presentando las características propias de ellos. Volviendo a sembrar estos mismos microbios de los tubos de agar-agar a los tubos de caldo peptonizado con 0,3 por mil y 1 por mil de  $\text{SeO}_3\text{Na}_2$  volvieron a desarrollarse como antes, esto es, coloreándose de rojo-ladrillo muy pronunciado.

Dí por terminadas las experiencias con caldo peptonizado arribando a la siguiente conclusión:

- 1° Que los bacilos Liquefaciens Fluorescente, Coli común, Paratíficos *A* y *B* y el Tífico, Stafilococo Dorado y Stafilococo Blanco, se desarrollan en caldo peptonizado en presencia de selenito sódico, coloreándose de rojo sangre más o menos intenso. La intensidad de la coloración aumenta según la mayor o menor dosis de  $\text{SeO}_3\text{Na}_2$ .
- 2° Estos mismos cultivos coloreados resembrados en cal-

do peptonizado o en agar-agar normales, vuelven a desarrollarse en las condiciones ordinarias, adquiriendo su color característico, sin variaciones de ninguna naturaleza.

El microbio normalmente desarrollado en el tubo de agar o en caldo peptonizado, reseñado a un tubo de caldo con selenito sódico, vuelve a adquirir su primera coloración roja. Lo mismo ocurre con el bacilo *Anthraxis*, pero su coloración no es tan profunda puesto que solo vira al rosado intenso. Esto indica que los microbios así coloreados no forman colonias o especies cromógenas.

EL CULTIVO DE LOS HONGOS EN EL LÍQUIDO NUTRITIVO MOSTO MALTA

A fin de conocer la acción del selenito sódico en la vida de los hongos, preparé el mosto malta, cuya fórmula indiqué más arriba. Una vez filtrado y esterilizado a la temperatura de 115° C. durante 30' lo repartí en 5 Erlemeyer, guardando uno de ellos con 200 cc. en calidad de testigo y a los cuatro restantes agregué en cada uno respectivamente, 0,05 por mil 0,1 por mil, 0,3 por mil y 1 por mil de selenito sódico; estas dosis de  $\text{SeO}_3\text{Na}_2$  disueltas en 10 cc. de agua destilada, fueron agregadas luego a 190 cc. de mosto malta, previa pasteurización a 85° C. durante dos horas. El líquido así obtenido fué repartido en cinco series de tubos en los cuales realicé las siguientes siembras: 1) *Levadura Vinica*; 2) *Levadura de Gibson*; 3) *Penicillium Glaucum*; y 4) *Sterigmatocystis Nigra*, obteniéndose el siguiente resultado:

27		<i>Levadura Vinica</i>	
Fecha de la siembra	Medio nutritivo: Mosto Malta	Desarrollo	
1920. Enero 24	1. Normal	Positivo	
	2. „ 0,05 % de $\text{SeO}_3\text{Na}_2$	Negativo	
	3. „ 0,1 „ „ „	„	
	4. „ 0,3 „ „ „	„	
	5. „ 1 „ „ „	„	

La Levadura Vínica se desarrolló bien en el tubo normal; durante la fermentación se desprendía constantemente CO<sub>2</sub> y agitando el tubo se producía inmediatamente el levantamiento de la espuma. Terminada la fermentación, el mosto transformado en vino expedía su olor característico. En cambio en los tubos con selenito sódico, no se observaban las características de desarrollo y fermentación y el líquido permanecía inalterable. Repetí varias veces la misma experiencia, constatando siempre el mismo resultado.

28

*Levadura de Gibson*

Fecha de la siembra	Medio nutritivo; Mosto Malta	Desarrollo
1920. Enero 24	1. Normal	Positivo
	2. „ 0,05 % de SeO <sub>3</sub> Na <sub>2</sub>	Negativo
	3. „ 0,1 „ „ „	„
	4. „ 0,3 „ „ „	„
	5. „ 1 „ „ „	„

Con la Levadura de Gibson obtuve exactamente el mismo resultado que con la Levadura vínica, razón por la cual no lo describo.

29

*Penicillium Glaucum*

Fecha de la siembra	Medio nutritivo; Mosto Malta	Desarrollo
1920. Enero 24	1. Normal	Abundante
	2. „ 0,05 % de SeO <sub>3</sub> Na <sub>2</sub>	Menor
	3. „ 0,1 „ „ „	Pequeño
	4. „ 0,3 „ „ „	Exiguo
	5. „ 1 „ „ „	Nulo

El *Penicillium Glaucum* dió un desarrollo abundante en el tubo normal y en los tubos con  $\text{SeO}_3\text{Na}_2$  su desarrollo decrecía según la dosis de la sal empleada, siendo completamente nulo en el tubo que la contenía en la proporción de 1 por mil.

30

*Strymatocystis nigra*

Fecha de la siembra	Medio nutritivo; Mosto Malta	Desarrollo
1920. Enero 24	1. Normal	Abundante
	2. „ 0,05 ‰ de $\text{SeO}_3\text{Na}_2$	Muy poco
	3. „ 0,1 „ „ „	Exiguo
	4. „ 0,3 „ „ „	Nulo
	5. „ 1 „ „ „	„

Por indicación del Dr. Carlos Spegazzini sembré el *Strymatocystis Nigra*, observándose que en el tubo normal, el desarrollo ha sido abundante con todas las características del hongo, mientras que en los tubos que contenían la sal selénica al 0,05 por mil y 0,1 por mil, su desarrollo ha sido muy pequeño, insignificante casi, siendo completamente nulo en los tubos, cuya riqueza en  $\text{SeO}_3\text{Na}_2$  ha sido al 0,3 por mil y 1 por mil.

EL CULTIVO DEL BACILO DE LA TUBERCULOSIS  
SOBRE PAPA GLICERINADA

El 11 de Febrero sembré el *bacilo de la tuberculosis*: 1) humana; 2) bovina y 3) aviaria sobre papa glicerizada. Como en los ensayos anteriores, dejé un tubo en calidad de testigo y en los demás cuatro había agregado el  $\text{SeO}_3\text{Na}_2$  al: 0,05 por mil 0,1 por mil, 0,3 por mil y 1 por mil. Este bacilo, que para su completo desarrollo, precisa de doce a diez y ocho días, dió un resultado tan contradictorio, que me imposibilita deducir conclusión alguna al res-

pecto. Dejo este trabajo para días más tranquilos, cuando mis condiciones materiales me permitan volver al laboratorio para analizar, investigar y experimentar o bien para los estudiosos que quieran conocer las condiciones de vida de este microbio, que tantos estragos produce a la humanidad, en el medio selénico.

EL CULTIVO DE PESTE BUBÓNICA Y DEL BACILLO DE LOEFLER (DIFTERIA) EN CALDO PEPTONIZADO

Conseguidas en la Dirección General de Salubridad de la Provincia las cepas del Bac. de la Peste Bubónica y de Loeffler, procedí al ensayo de estos microbios en caldo peptonizado, observándose lo siguiente:

31

*Bacillus Peste Bubónica*

Fecha de la siembra	Medio nutritivo: caldo peptonizado	Desarrollo
1920. Junio 2	1. Normal	Positivo
	2. „ 0,05 % de $SeO_3Na_2$	Id color lig. rosado
	3. „ 0,1 „ „ „	Id id id
	4. „ 0,3 „ „ „	Id id rojo
	5. „ 1 „ „ „	Id id rojo oscuro

El Bac. de la Peste Bubónica se había desarrollado abundantemente en el tubo normal, teniendo el color opalescente, mientras que en los demás tubos el desarrollo ha sido menor virando más o menos hacia el rojo. Esta coloración del cultivo ha sido tanto o más pronunciada cuanto más ha sido la dosis de la sal selénica agregada.

32 *Bacillus Loeffler (difteria)*

Fecha de la siembra	Medio nutritivo: caldo peptonizado	Desarrollo
1920. Junio 2	1. Normal	Positivo
	2. „ 0,05 „ „ de $\text{SeO}_3\text{Na}_2$	Id color lig. rosado
	3. „ 0,1 „ „ „	Id id id
	4. „ 0,3 „ „ „	Id id rojo
	5. „ 1 „ „ „	Id id rojo oscuro

El Bac. de Loeffler (difteria) se desarrolló normalmente en el tubo que servía de testigo, mientras que en los demás cuatro tubos su desarrollo había disminuído virando al rojo y rojo ladrillo según la dosis de  $\text{SeO}_3\text{Na}_2$  que contenían. Los microbios que se habían coloreado de rojo, al estar un mes en la estufa tomaron la coloración chocolate oscuro.

Resultando: que los bacilos de la peste bubónica y de Loeffler dan cosechas algo menores en medio selénico, coloreándose de rojo y rojo-ladrillo muy pronunciado.

CONCLUSIONES

De lo observado durante el proceso vegetativo de las plantitas ensayadas, deduzco las siguientes conclusiones:

1° Que el selenito sódico tiene poder tóxico sobre las plantas.

2° La proporción de 0,3 y 0,1 por mil impide totalmente al crecimiento.

3° En las proporciones de: 1 : 20.000 y 1 : 40.000, las leguminosas se desarrollan en forma anormal, raquífica; las crucíferas sucumben en su mayor parte.

4° Reduce la parte aérea; intensifica la coloración verde en las hojas, concentrando la clorófila; atrofia las raíces, adquiriendo estas, color rojo-marrón muy oscuro.

5° Disminuye en forma notable el peso de las plantas

6° Ninguna de las plantitas cultivadas a base de la sal seleniosa fué invadida por parasitos vegetales, mientras los porotos cultivados a base de la solución Knop fueron invadidos por la peronóspora (?).

7° Las plantitas muertas en el líquido de Knop fueron invadidas por el *Penicillium Glaucum*. Las cultivadas a base de las soluciones selenicales, al sucumbir, no lo fueron.

8° Los bacilos: Fluorescente, Paratífico, *A* y *B*, Coli, Carbunco (Anthraxis), Tifus, Loeffler (difteria), Peste Bubónica, Stafilococo dorado, Stafilococo blanco, en medio de  $\text{SeO}_3\text{Na}_2$  se colorean de rojo, siendo este color tanto más intenso cuanto mayor es la dosis de dicha sal debiéndose el enturbiamiento del medio más que todo, a la movilidad de los gérmenes, pues pasada la época en que este fenómeno es más activo — cultivos viejos — el medio se clarifica con formación de depósitos constituidos por gérmenes inmóviles o muertos.

9° Que el selenito sódico en las condiciones de mi experimentación ejerce una acción antiséptica manifiesta y absoluta sobre los saccharomycetas (levaduras). Por consiguiente, deberá evitarse la adición de esta sal en las cubas de fermentación, so pena de suprimir en ellas toda la actividad vital; o bien agregarla con el propósito de detener la fermentación en una faz dada, según las condiciones y según las necesidades.

10. Actúa como poderoso antiséptico sobre el *Penicillium Glaucum* (moho), cuando su dosis es de 1 por mil.

11. Es también un poderoso antiséptico para el *Sterigmatocystis Nigra*, cuando su dosis es de 0,3 por mil.

La Plata, Noviembre 30 de 1920.

MAX AWSCHALOM.