

## BOTÁNICA MICROGRÁFICA.



## EL CRIPTOCOCCUS DEL PULQUE,

MEMORIA LEIDA EN LA SOCIEDAD HUMBOLDT,  
EN DICIEMBRE DEL AÑO PASADO,

POR EL SEÑOR DON JOSE BARRAGAN.

SEÑORES:

La fermentacion es un fenómeno que consiste en la descomposicion (ó por lo ménos cambio isomérico) de una sustancia orgánica bajo la accion de otra azotada é igualmente orgánica. La primera se llama fermentecible y la segunda fermento.

Actualmente están estudiadas muchas especies de fermentaciones, siendo tal vez la alcohólica la mas antiguamente conocida. Con este nombre se llama aquella en la que el fermento separa los elementos del azúcar en dos compuestos principales, ácido carbónico y alcohol.

Lewenhoek, el ilustre fundador de las observaciones microscópicas, descubrió un cuerpo organizado en el fermento de la cerveza. Más tarde se ha confirmado esta observacion por todos los micrógrafos y se ha extendido á otros varios fermentos.

Para unos, esos cuerpos organizados constituyen los fermentos; pero para otros, no son sino compañeros, digamos así, de las sustancias azotadas que constituyen los verdaderos fermentos. Los partidarios de ambas teorías combaten con notable habilidad, pero todos están conformes en la existencia de esos seres organizados en las fermentaciones alcohólicas. No podia ser de otra manera, supuesto que el microscopio, con los adelantos que ha recibido en estos 30 ó 40 últimos años, permite adquirir conocimientos tan exactos, como los que pueden tenerse con el buen uso de todos los sentidos.

La bebida tan acostumbrada en la mesa central de México, el pulque, resulta de una fermentacion alcohólica. ¿Su fermento será, ó vendrá acompañado de un sér organizado? La presente Memoria tiene por objeto la solucion de esta cuestion.

Puesta una gota de pulque entre dos vidrios en el foco de un microscopio de un poder amplificante de 150 á 200 diámetros, se distinguen en ella multitud de cuerpos de una forma circular; pero su verdadera forma es la esferoidal, porque rodando sobre sí en las corrientes que aparecen en los primeros momentos de la observacion, ó cuando intencionalmente se producen, siempre se

ven circulares, y solo un cuerpo esferoidal tiene la propiedad de proyectarse constantemente sobre un plano como un círculo, cualquiera que sea la posición que tenga respecto del ojo del observador.

Para estudiar estos cuerpecillos esferoidales con mas prolijidad, se necesita disponer de poderes amplificantes mayores; los que he empleado en el presente estudio son de 300 á 1000 diámetros. Con ellos, no tardé en distinguir que la forma de estos cuerpecillos es variable; la de unos es de una esfera, la de otros es una elipsoide, y la de los mas, de un huevo; su superficie es lisa; jamas se distinguen en ella ni con la luz directa ni con la luz oblicua, puntos ni pliegues; los mas grandes tienen un diámetro de 8 milésimos de milímetro, pero los hay tan pequeños que apenas miden de uno á dos milésimos de milímetro. Por lo comun no se encuentran aislados, sino juntos, dos, tres y hasta cuatro; y de tal manera, que el conjunto de los diámetros, segun los cuales se juntan, forma una línea flexuosa. Cosa digna de notarse: los pocos cuerpecillos aislados son por lo comun los de mayores dimensiones, mientras que los mas pequeños *siempre* están reunidos á los mayores. Si se examinan uno por uno los diversos grupos, se notan cuerpecillos de diversas dimensiones reunidos á los mas grandes; de suerte que se puede deducir naturalmente que crecen por medio de yemas, esto es, que en la superficie de los mas grandes aparece primero uno pequeño, que va creciendo hasta igualarse al primero, poniéndose en disposicion de producir, del mismo modo, otro y otros cuerpecillos. Las paredes de ellos son blandas, porque cuando se comprimen entre sí pierden su forma redonda, viniendo á ser poligonales: así se les ve en los asientos del pulque, ó cuando se precipitan por medio del alcohol concentrado. En estos dos casos no puede decirse que los corpúsculos han cambiado de forma por otra causa que la mutua presión, porque aquellos que no se han amontonado y comprimido, conservan su forma primitiva.

Los cuerpecillos son transparentes, pero no de una composición homogénea; porque haciendo descender lentamente el foco del microscopio para estudiar sus diversos planos, al llegar á su plano medio, se distingue una línea confusa y oscura, no concéntrica al contorno exterior: tal línea no puede provenir de otra causa que de la diversa refrangibilidad de la luz, la cual á su vez depende de que la masa de estos cuerpecillos es heterogénea. Para fijar esta observación (la de la existencia de la línea interna oscura) de que depende el conocimiento de su estructura, y para evitar toda ilusión, he cambiado cuanto me ha sido posible, todas las circunstancias: los he examinado con luz directa, con luz oblicua, empleando todos los grados de oblicuidad; con diversa intensidad de luz y con todos los aumentos de que he podido disponer. El resultado ha sido constante, siempre ha aparecido la línea circular, y siempre más ó menos

confusa. Luego los cuerpecillos del pulque se componen al exterior de una sustancia, en el interior de otra.

Esta conclusion se robustece hasta hacerse evidente, empleando diversos reactivos.

En efecto, tratados por el reactivo de Gerlack, que como se sabe se compone de carmin disuelto en amoniaco, y macerados un poco de tiempo en él, la parte exterior se colora ligeramente, apareciendo en el microscopio con un tinte oscuro y formando una zona igual en ancho á la cuarta ó sexta parte del diámetro de los cuerpecillos, miéntras el centro es enteramente trasparente y la línea de separacion es ahora perfectamente neta y marcada: así, pues, la diversa accion de estos reactivos sobre la parte exterior é interior de los cuerpecillos, comprueba lo mismo que probaba ántes la diversa refrangibilidad.

Otro tanto sucede empleando el nitrato ácido de mercurio, sobre todo en exceso y con una maceracion de 30 ó 40 horas. Entónces todo el cuerpecillo se colora con un tinte rojo pálido, pero la línea de separacion de las dos sustancias es sumamente oscura.

El método que emplea Schulz para separar los órganos elementales que componen la madera (utrículos, fibras y vasos), me ha hecho conocer mas íntimamente la estructura de los cuerpecillos del pulque. Consiste este método en hacer obrar á la llama de una lámpara y en una probeta sobre un trocito de madera, agua, clorato de potasa, en cantidad igual al trocito, y unas gotas de ácido azótico; bien pronto se verifica la reaccion con vivo desprendimiento de gases: cuando el trocito de madera se ha reducido á pequeños fragmentos, se vacia todo en un poco de alcohol, repitiendo varias veces la lavadura. Esto mismo hice con el pulque, omitiendo solo el agua y operando en dos probetas: en una con poco clorato y en la otra con un exceso. La reaccion se verificó en la segunda probeta, como de ordinario; no hubo separacion de corpúsculos, pero sí una especie de diseccion de los cuerpecillos de las mas concluyentes: habian perdido un tercio ó más de su volúmen; su forma esferoidal se habia alterado por dos aplanamientos, llevados á tal punto, que poco faltaba á algunos para tomar una forma discoidéa; por último apareció un núcleo muy pequeño y excéntrico, perfectamente distinto. La interpretacion de este hecho es clara: se habia vaciado y disuelto el contenido de ellos, resistiendo solamente la membrana y el núcleo á la accion reunida y poderosa de los ácidos azótico y clórico, y del calor llevado hasta la ebullicion. Este conjunto de observaciones y experimentos prueban que los cuerpecillos del pulque son séres organizados, y que su organizacion consiste en una célula elemental; pero célula completa, esto es, compuesta de una membrana, de un contenido y de un núcleo.

Omito referir las reacciones con otras sustancias; algunas, porque necesito rectificarlas, y otras, porque admitiendo varias interpretaciones, no conducen á un resultado positivo. No puedo pasar en silencio, sin embargo, el siguiente experimento: quise ver si las células del pulque se coloraban en una solución muy subida de anilina azul; disolví esta sustancia en el pulque, en tal cantidad que pareciese negro, por refracción; la dejé en contacto algunas horas, y después puse una gota en el foco del microscopio. El resultado fué verdaderamente sorprendente: sobre un fondo azul, solamente comparable á alguno de los tintes que da la luz polarizada, aparecieron multitud de celdillas; unas que habían absorbido algo de la anilina, bastante para ser más azules que el fondo; otras menos abundantes, en tal cantidad, que su color era negruzco; otras, en fin, y es lo más notable, nada absolutamente, de modo que su color blanco contrastaba singularmente con el fondo azul. Esto prueba evidentemente la diversa vitalidad de las celdillas; unas absorben con avidez, las otras menos, en las últimas terminó la endosmosis y tal vez la vitalidad.

Respecto á la composición química de estas celdillas, muy poco tengo que decir: no son de celulosa ni se encuentra en ellas este principio inmediato, porque tratadas por el yodo y el ácido sulfúrico no se coloran en azul: el mismo resultado negativo se obtiene con el reactivo de Schulz, que es una solución iodada de cloruro de zinc. Lo único que hay de positivo es, que uno de sus principios remotos es el azote, porque se coloran en amarillo anaranjado con la tintura de yodo, y en rojo ó rosado con el nitrato ácido de mercurio.

Las celdillas que he estudiado hasta aquí, no son los únicos cuerpos sólidos que nadan en el pulque; hay además algunos cuerpos pequeñísimos, agitados del movimiento browniano, cuya pequeñez escapa á todo estudio, y filamentos sumamente tenues, flexuosos, de longitud muy variable, habiendo algunos ocho ó diez veces más largos que la célula más grande: lo único que puede asegurarse de estos filamentos es, que no tienen azote en su composición, porque la tintura de yodo que colora tan perfectamente las células, no colora los filamentos.

Estas granulaciones y estos filamentos tienen incuestionablemente relaciones importantes con las células: los filamentos muestran, tal vez, el camino para llegar á saber de dónde viene este vegetal, y las granulaciones son probablemente los corpúsculos reproductores que han recibido tan diversos nombres de los autores (sporidio, gonidio, seminula, etc.); y digo probablemente, porque no he llegado á ver con constancia su adherencia con las células. Depende esto, con toda verosimilitud, de que el pulque que he examinado, es el que se vende en la capital, que ha recibido una agitación prolongada en su transporte de los Llanos de Apam.

Resumiendo ahora en una descripción tan concisa como se acostumbra en Historia Natural, lo que hay de positivo sobre los corpúsculos del pulque, podemos decir que son: *unas células de 0<sup>mm</sup>008, esféricas ú ovoideas, á veces libres, pero mas comunmente reunidas, dos, tres, hasta cuatro, en una línea flexuosa: de consistencia blanda, transparentes; compuestas de una membrana, un contenido y un núcleo, perceptibles distintamente solo con ciertos reactivos; crecen por yemas y se reproducen verosímilmente por semínulas que se separan fácilmente de las células; viven en el pulque y no están compuestas de celulosa y si de uno ó varios principios azotados.*

De esta descripción se deduce, que es un vegetal criptógamo y de los mas inferiores: en efecto, es vegetal, porque así se llama un sér organizado que se nutre, llega á cierto tamaño y forma determinada y se reproduce, pero que carece de sentimiento y movimiento espontáneo: es criptógamo, porque así se clasifican las plantas en las que no hay estambres ni pistilos: pertenece á las mas inferiores, porque no hay organización mas inferior que aquella en que todas las funciones de nutrición se confunden, como en el caso presente, en una sola celdilla. Apurando más la clasificación, debemos buscar el lugar de esta planta en la familia de los líquenes, ó de los hongos, ó de las algas, porque solo estas familias comprenden especies tan degradadas, por decirlo así, en la escala de la organización. Creo que pertenece á las algas; lo creo porque vive constantemente, esto es, se nutre y se reproduce en un medio líquido; propiedad que solo se encuentra en esta familia. Los líquenes, dice Nylander, que se ha consagrado á su estudio, tienen dos caracteres comunes á todos ellos; vivir en la *atmósfera* y cierta energía de resistencia contra los agentes que combaten contra su vida: adheridos á una corteza ó á una roca, el calor puede secarlos, hacer cesar los fenómenos vitales; para otra cualquiera planta habria sido la causa de su muerte, pero para los líquenes no es mas que una suspensión, una especie de sueño, porque si se les vuelve á la humedad, cualquiera que sea la estación, recobran su energía y continúan vegetando. Compárense estos caracteres con los de nuestra criptógama, siempre viviendo en un líquido, yéndose al fondo primero y despues pudriéndose si se agota la materia sacarina que les sirve de alimento y se les deja despues al contacto del aire. Los hongos viven tambien y suelen vegetar en la superficie del agua, pero nunca en su interior. Queda, pues, bien clasificado este vegetal entre las algas. ¿Pero cuál es su género?

Recorriendo las numerosas divisiones y subdivisiones que Kutzing establece en su *Especies algarum*, se llega fácilmente á colocarla en el género *Cryptococcus*.

En efecto, pertenece á la que este autor llama clase de las *Isocarpeas*, porque tiene una sola forma de órganos reproductores; á la subclase de las *Malacophiceas*, porque sus celdillas son blandas y no tienen como las *Diatomeas* una cubierta siliceosa; á la tribu de las *Gynospermeas*, porque sus seminulas ó gonidios, como los llama Kutzing, no están contenidos en un esporangio; al orden de las *Eremospermeas*; porque las seminulas son superficiales en la fronda ó phicoma, puesto que tan fácilmente se separan de ella; al suborden de las *Micophiceas*, porque son algas acromáticas, es decir, sin color y vegetan en una solución; á la familia de las *Cryptoceas*, porque sus seminulas son pequeñas, sólidas, mucosas; y finalmente, al género *Cryptococcus*, porque sus cuerpos gonimicos ó seminulas están reunidos en un *stratum* amorfo y difluente.

Entre las 13 especies que describe Kutzing se encuentra el *Cryptococcus* de la cerveza, cuya característica es la siguiente:

Cellulis achromaticis globosis aut aovatis, vesicula interna, magna, cava et hyalina notatis, diametro plerumque  $\frac{1}{300}$  interdum ad  $\frac{1}{250}$ .

Estos caracteres convienen con los que da la observación directa, esto es, sin el empleo de reactivos, en la criptógama del pulque. La única diferencia consiste en las dimensiones de sus diámetros respectivos, siendo de la mitad el diámetro de las células de la cerveza; diferencia que solo autoriza para hacer una variedad de la misma especie.

Pero como no he estudiado, ni Kutzing tampoco, las células de la cerveza, empleando los reactivos ya mencionados, no puede asegurarse que tengan la misma estructura, y por consiguiente que pertenezca á la misma especie. Así es que hasta nuevo estudio podemos llamar al vegetal *Cryptococcus del pulque*, sin resolver sea una especie nueva ó solo una variedad del *Cryptococcus cerevicie*.

Conocida la estructura y determinado el género de este vegetal, ocurren diversas cuestiones, cuya solución interesa al conocimiento íntimo del pulque, bebida de que tanto se usa y se abusa en México.

Apunto las siguientes: 1.<sup>a</sup> El *Cryptococcus* del pulque, es el fermento mismo de esta bebida, ¿ó solo acompaña constantemente al verdadero fermento,

2.<sup>a</sup> Resistiendo las células del *Cryptococcus* tan tenazmente, sin disolverse? á reactivos tan poderosos como el ácido nítrico, el nitrato ácido de mercurio, el ácido sulfúrico no muy concentrado, el amoniaco y otros, ¿se disolverán en los humores del tubo digestivo, es decir, se digerirán? ¿Contribuirán á la digestión de los alimentos, ó vendrán á ser arrojadas en las heces como materia inerte?

3.<sup>a</sup> No admitiendo, como la mayor parte de los naturalistas, la generación espontánea, ¿de dónde viene este vegetal al pulque?