

Don.
dela

JUNTA PARA AMPLIACIÓN DE ESTUDIOS É INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

Anales: Tomo XV.

Memoria 3.^a

ALGAS MICROSCÓPICAS MARINAS

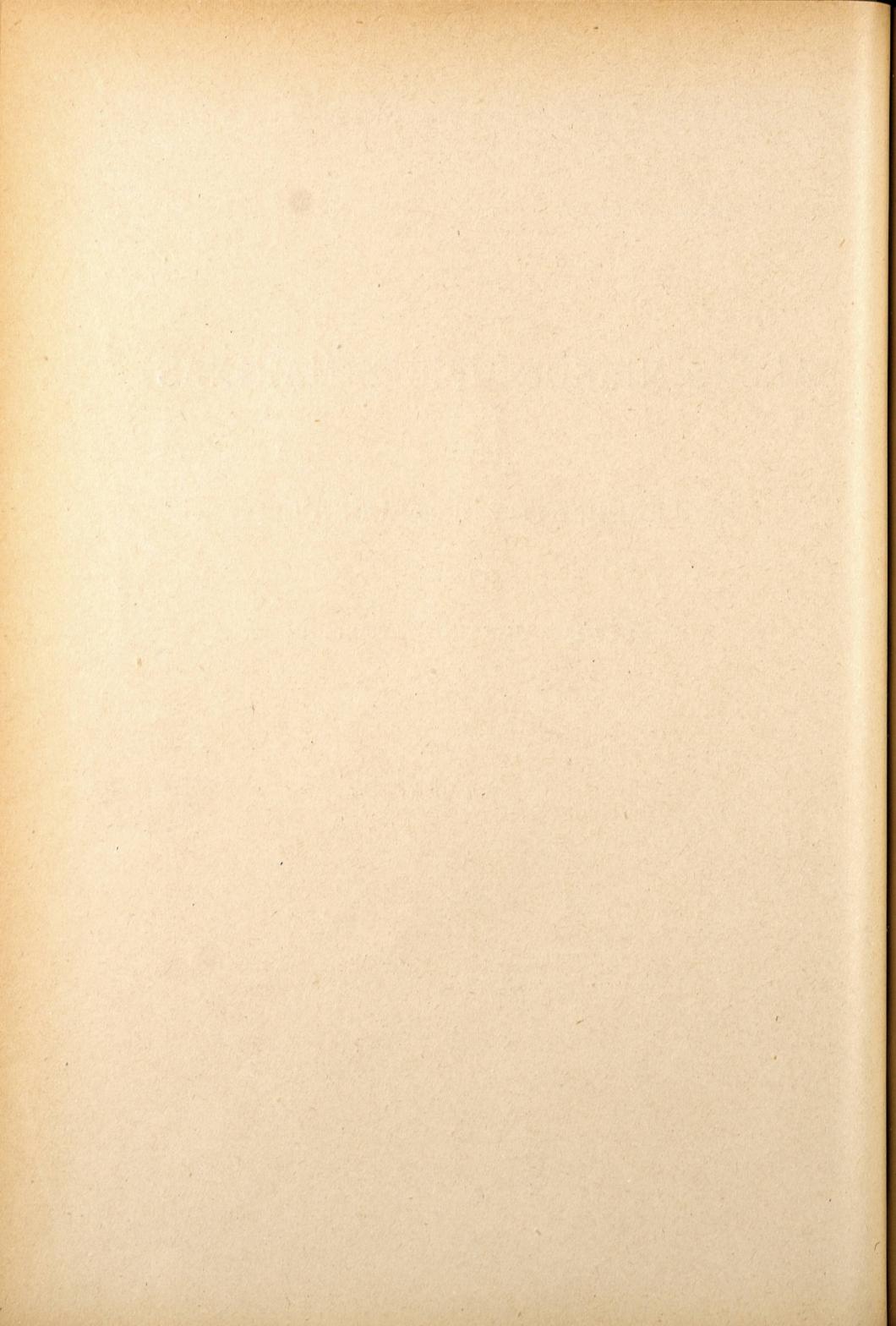
Y

PROCEDIMIENTOS OCEANOGRÁFICOS

POR

N. ESTEBAN MARTÍN LECUMBERRI





Habiendo sido pensionado por la Junta para ampliación de estudios e investigaciones científicas, con objeto de estudiar en algunos laboratorios extranjeros algas microscópicas marinas y procedimientos oceanográficos, he permanecido antes de dar oficialmente principio a mi pensión, dos meses en el Laboratorio Biológico-marino de Baleares. Durante ese tiempo me he ocupado en una labor preparatoria, consistente en seguir la marcha de las operaciones referentes á Oceanografía física que se llevan á efecto diariamente en el mar y periódicamente en el laboratorio.

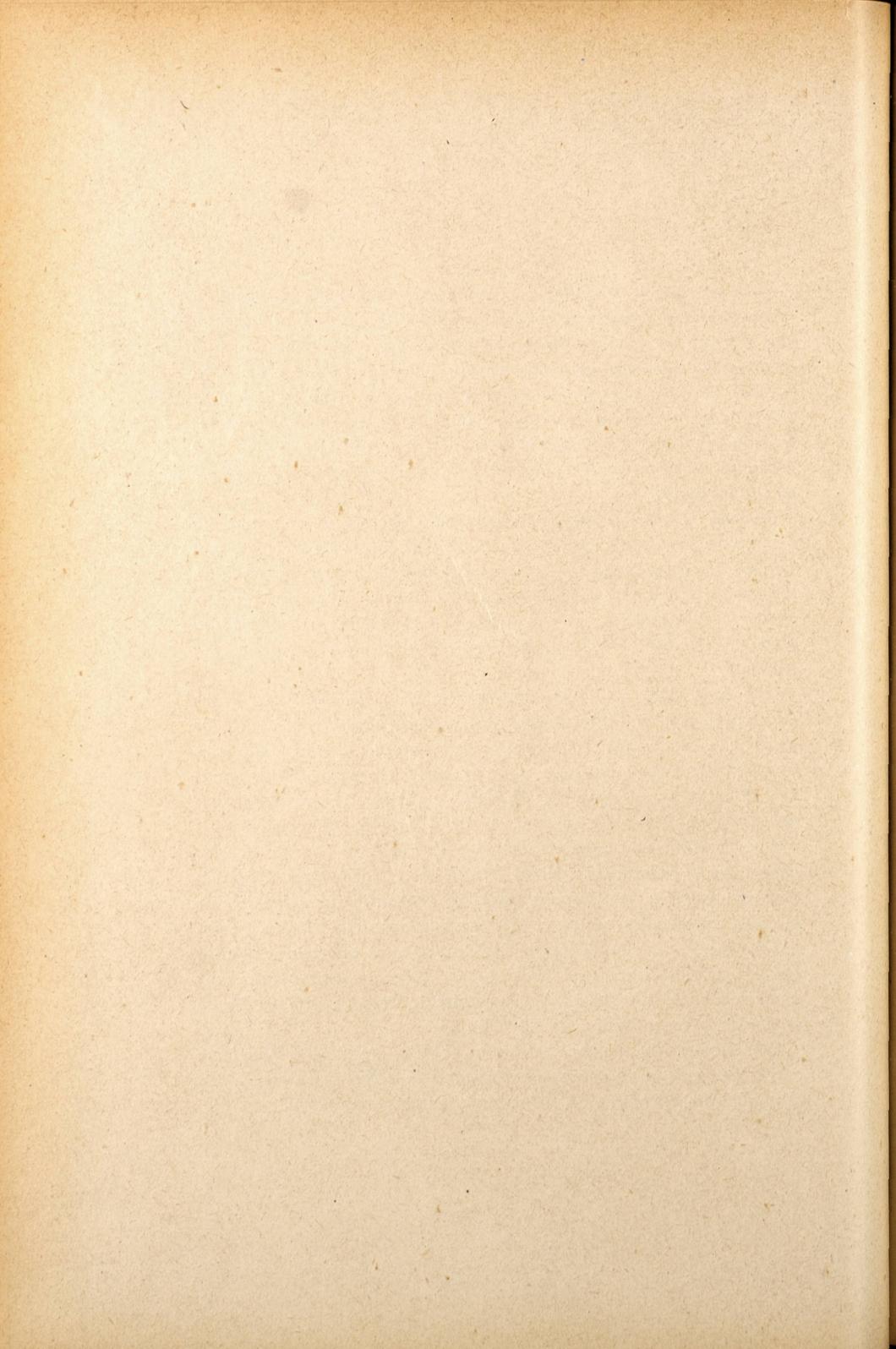
Además de esto, mi principal ocupación consistió en acumular los materiales sobre los cuales pensaba efectuar mis observaciones. Con este fin he recogido, en las diferentes pescas y dragados efectuados, la mayor cantidad posible de materiales, tanto planktónicos como de fondo, de cuyo estudio, por ser sumamente laborioso, no doy sino una parte en esta Memoria; la otra será objeto de alguna publicación posterior.

Los materiales de fondo, recolectados en Baleares, consistentes principalmente en Diatomáceas, han sido preparados y estudiados siguiendo una técnica conocida por todos los que á estos estudios se dedican. Por eso, no creyendo encierre esta parte gran cosa de original, si no es la de completar la lista de las especies ya citadas en estos lugares, la doy á modo de apéndice al final de este trabajo.

Al mismo tiempo que verificaba la preparación y estudio de estos materiales de fondo de nuestras aguas, en el Laboratorio Arago de Banyuls-sur-Mer, me ocupaba también, aprovechando los medios de que éste dispone, en efectuar, tantas veces como fué posible, pescas planktónicas á bordo del vapor Roland. A estos materiales, fijados por los procedimientos que emplean los Laboratorios marinos más autorizados, he aplicado en el Laboratoire de Cryptogamie del Museo de París, la nueva técnica de Mr. Mangin.

Esta técnica está basada en estudios llevados á efecto por el mismo autor acerca de la constitución química de la membrana de las algas (Diatomáceas y Peridínias), á que se aplica principalmente.





Antes de abordar la exposición de los resultados de mis trabajos sobre ALGAS MICROSCÓPICAS MARINAS Y PROCEDIMIENTOS OCEANOGRÁFICOS, tengo un agradable deber que cumplir: es el de dirigir aquí la expresión de mi más viva gratitud á todos aquellos que han contribuído á facilitarme con su amable colaboración los medios conducentes á su realización.

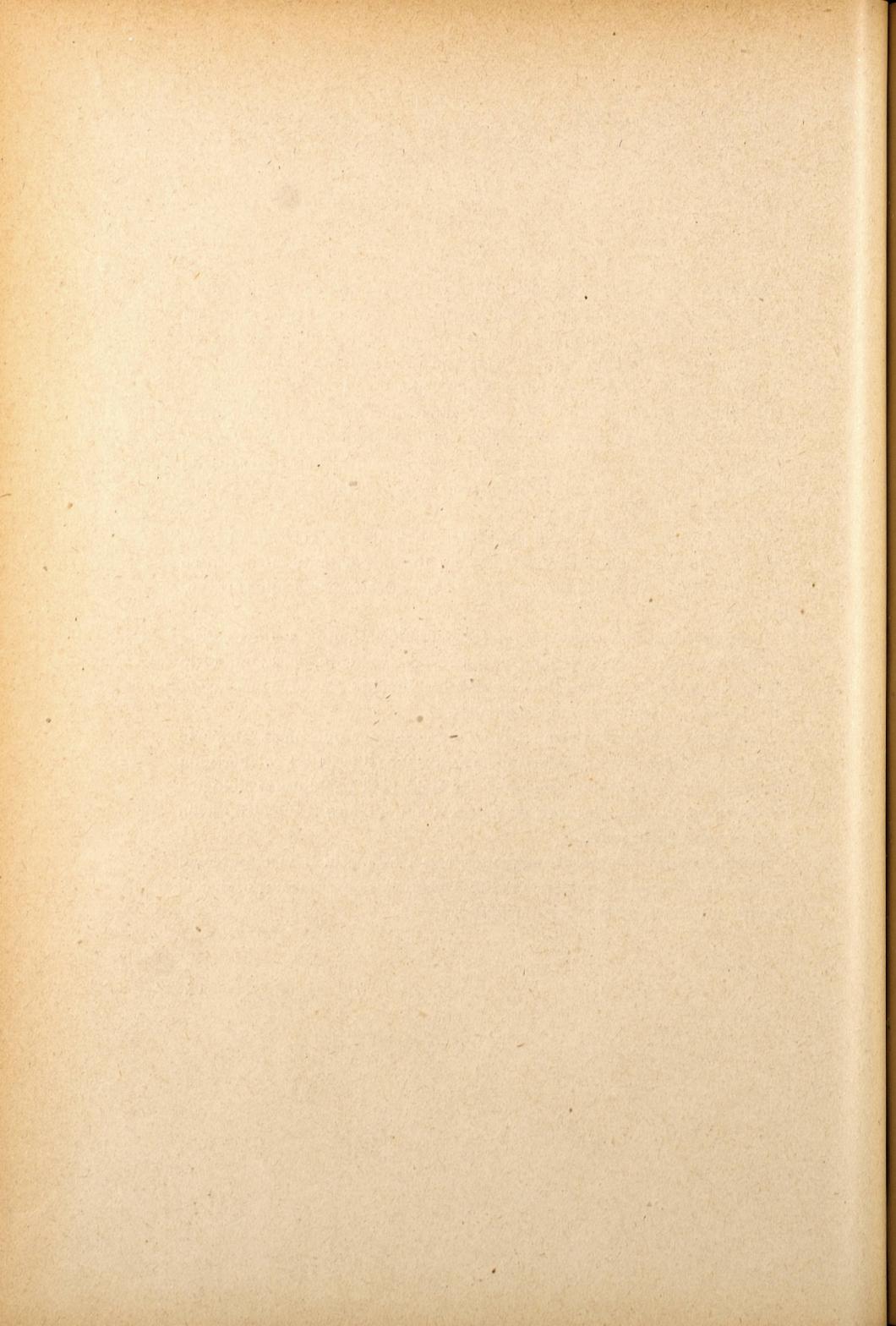
Habiendo llevado á cabo estas investigaciones en tres Laboratorios, debo dar las gracias primeramente al sabio Director del *Laboratoire de Cryptogamie* del Museo de París, Mr. L. Mangin, con el cual he realizado la parte más extensa de mi trabajo y sin cuyos acertados consejos y disposiciones nada hubiera hecho.

A Mr. Richard, Director del Museo Oceanográfico de S. A. S. el Príncipe de Mónaco, debo también el haber dispuesto, tanto en el Museo como en el mar, de todos los elementos necesarios á mis estudios oceanográficos.

Debo igualmente expresar mi sincero agradecimiento á los Sres. Pruvot y Racovitza, Director y Subdirector, respectivamente, del Laboratorio Arago de Banyuls-sur-Mer, en cuyo establecimiento encontré una acogida amistosa y todo género de facilidades.

Por último, no cerraré este capítulo sin consignar que una gran parte de los materiales sobre que he trabajado se deben á la activa colaboración prestada por mi querido compañero Dr. Galán, del Laboratorio biológico de Baleares, el cual, durante mi estancia allí, se puso á mi disposición para proporcionármelos.

Además de los nombres consignados, uno á esta lista todo el personal de los laboratorios en que he llevado á cabo mis observaciones, al cual quedo muy reconocido por su amabilidad.



OBSERVACIONES SOBRE LA CONSTITUCIÓN DE LA MEMBRANA CELULAR EN LAS DIATOMÁCEAS

La constitución de la membrana de las Diatomáceas no es del todo conocida; todos los autores que tratan de estas algas, no dan sobre esta constitución sino indicaciones vagas y contradictorias: la parte orgánica de esta membrana tiene, según unos, las reacciones de la celulosa; según otros, constituye una substancia que, sin poseer estas reacciones, es, sin embargo, próxima á la celulosa. Estas dos afirmaciones son igualmente contrarias á la realidad.

Cuando se hacen actuar sobre las Diatomáceas los reactivos colorantes de las substancias fundamentales de la membrana, tal como ha demostrado Mr. Mangin en sus trabajos (1), se apercibe que los reactivos de la callosa y de la celulosa no comunican á la membrana ninguna coloración; por el contrario, los reactivos de los compuestos pécticos, es decir, las materias colorantes básicas, actuando en un medio neutro, se fijan más ó menos enérgicamente sobre las valvas de las Diatomáceas. La membrana de estas plantas está, pues, constituida con exclusión de la celulosa y la callosa, por compuestos pécticos ó por substancias que tienen exactamente las mismas reacciones que estos cuerpos. Este hecho explica por qué diversos autores han obtenido, sin explicarse la causa, coloraciones más ó menos claras, pero fugaces, con el azul de metileno, la safranina, la hematoxilina, etc.

Cuando se emplean Diatomáceas frescas ó conservadas en alcohol, la coloración es siempre muy desigual y frecuente-

(1) L. MANGIN: *Observations sur les Diatomées*. (*Annales de Sciences Naturelles*. Neuvième série, Botanique.)

mente casi nula; no pueden obtenerse resultados seguros, sino empleando la hematoxilina aluminosa vieja, después de la acción previa de ciertas sales: alumbre de hierro, vanadato de amonio, etcétera. Cuando se desea obtener una fuerte elección colorante, sin que las masas plásmicas estorben, es preciso hacer sufrir á las Diatomáceas un tratamiento previo. En efecto, la sílice que impregna las valvas en mayor ó menor abundancia, está tan íntimamente combinada con la materia orgánica, que las reacciones de ésta resultan completamente enmascaradas. Se produce en este caso un fenómeno análogo al que manifiestan los tejidos lignificados; en que las reacciones de la celulosa y la pectosa resultan enmascaradas. Cualquiera que sea la naturaleza de esta combinación, es necesario destruirla previamente para poder observar la acción electiva de la substancia orgánica. Se obtiene este resultado por la permanencia de las plantas en ciertos reactivos: ácido clorhídrico y clorato de potasa, hipoclorito de potasa ó agua de bromo, al cual sigue una maceración en una solución de potasa cáustica. Estos diversos agentes son los que permiten revelarse la acción electiva de la celulosa y la callosa.

Después de estos diversos tratamientos, los colorantes básicos son fijados por la membrana y acusan con una gran claridad los detalles de estructura más delicados. Entre estos colorantes se debe dar la preferencia al rojo de rutenio y á la hematoxilina aluminosa vieja, que permite obtener preparaciones permanentes, montadas en bálsamo del Canadá.

La constitución de la membrana de las Diatomáceas, es, pues, muy sencilla, como en las Peridinias, con la diferencia de que en estas últimas, la celulosa existe sola ó casi sola, en tanto que en las Diatomáceas los compuestos pécticos existen en estado de pureza. Esta constitución explica la abundancia del mucílago pectósico segregado por un gran número de especies, cuya formación parecía independiente de la membrana.

El método de coloración fundado sobre la constitución de la membrana, presenta un interés muy grande y es muy práctico desde el punto de vista de la determinación de las especies. Ac-

tualmente, para estudiar la estructura íntima de las valvas, se emplea todavía el tratamiento por los ácidos. Este procedimiento, que proporciona para las Diatomáceas de fondo resultados bastante buenos, es muy defectuoso para las del plankton; á causa de la débil silicificación de las valvas, la delicadeza de estructura no resiste á tan enérgicos procedimientos, no se pueden observar sino fragmentos de individuos, y las relaciones de las valvas y de los individuos, no pueden conocerse. El empleo de los colorantes sobre las Diatomáceas frescas ó sucesivamente tratadas por los hipocloritos y la potasa, remedia estos inconvenientes.

La coloración del plankton es el sólo medio que permite hacer su análisis completo y definir la relación que guardan unos individuos con otros; pone, además, en evidencia, con una gran claridad, los finos cordones mucosos que cubren el caparazón de ciertas especies. Tal es el caso, por ejemplo, de las cadenas de *Thalassiosira gravida* y de *Th. Nordenskioldi*, muy característico por sus individuos rodeados de una cadena de cirros, que suelen alcanzar una gran longitud.

Se puede observar también en las esporas durables de *Chaetoceros*, principalmente de *Ch. teres*, las coronas de filamentos finos y flexibles que existen en la porción ecuatorial de la espora, bien diferentes de las prolongaciones silicificadas que adornan las valvas de ciertas especies. Por otra parte, con el empleo de los colorantes la estructura de las valvas deja aparecer, además de las costillas, de las perlas ó de las estrías, ornamentos que no se descubrían tampoco con los métodos de destrucción empleados para las Diatomáceas de fondo; así, por ejemplo, se puede comprobar cómodamente que las especies de los géneros *Chaetoceros*, *Leptocylindrus*, *Ditylimum* y *Bacteriastrum* poseen, contrariamente á la opinión corriente, valvas en forma de estuches cilíndricos ó aplanados, de estructura anillada ó escamosa muy uniforme. Esto nos permite distinguir varios grupos; en el género *Chaetoceros* se pueden establecer dos bien diferentes: los *Chaetoceros anillados* y los *Chaetoceros lisos*. Los primeros, definidos por sus valvas anilladas, como el *Chaetoceros teres*, *Ch. Lo-*

renziarum, etc., son las especies con valvas más largas que anchas; los segundos comprenderían las especies con valvas más anchas ó tan anchas como largas. En consecuencia, el género *Peragallia*, de Schutt, deja de ser distinto para entrar en la sección de los *Chaetoceros anillados*.

Datos históricos.

La existencia de una membrana de naturaleza orgánica en las valvas silíceas de las Diatomáceas se ha puesto en evidencia hace más de medio siglo, pero la naturaleza de esta substancia no ha sido aún claramente precisada.

Esta incertidumbre, tan largo tiempo conservada, parece debida á dos causas. De un lado, el descubrimiento de la reacción iodada de la membrana celulósica no ha revelado durante mucho tiempo en la pared celular otra substancia que la celulosa, y sin apoyarse en investigaciones especiales se ha aplicado á la mayoría de las membranas vegetales los datos que los reactivos iodados, largo tiempo usados exclusivamente (cloruro de zinc iodado, ácido sulfúrico iodado), habían revelado para algunos tejidos. Por otra parte, el esqueleto silíceo de la mayoría de las Diatomáceas, por lo menos de las Diatomáceas de fondo, es tan fácil de aislar por calcinación, que los especialistas han formulado la sistemática de numerosos grupos sobre la constitución de las valvas silíceas, sin preocuparse de la parte orgánica. Del mismo modo todos los trabajos publicados, aun los más recientes, sobre la constitución de la membrana, no se refieren sino á su estructura íntima y no contienen ninguna indicación sobre su constitución química.

En una pequeña nota de Bailey publicada en 1851 (1), es don-

(1) J. W. BAILEY: *On the cell-membrane of diatomeous Skells. Miscellaneous notices.* (*The American Journal of Science and Arts. Second series.*—Vol. xi, 1851, pág. 350.)

de aparece la primera mención de una membrana orgánica en las valvas silíceas de las Diatomáceas. «Si el ácido fluorhídrico se aplica á las Diatomáceas frescas, la sílice es pronto disuelta, dejando una membrana celular interna que conserva la forma general de las valvas.»

El autor añade que el aislamiento de la membrana no se consigue bien cuando las Diatomáceas han sufrido la acción del ácido nítrico antes de la del ácido fluorhídrico.

Posteriormente otros autores han hecho investigaciones á este mismo propósito, entre otros Bailey, Smith, Lüders, Weiss, etc.

La imposibilidad de colorear la substancia fundamental de la membrana de las Diatomáceas no ha suscitado desde 1882 ninguna investigación nueva, y los autores, bastante numerosos, que han estudiado la formación del mucílago que producen estas plantas, no han pensado que su formación podía ser dependiente de la parte orgánica de la membrana, como ocurre en las Fane-rógamas y entre las Talofitas, en un gran número de algas.

Se ve por los hechos citados que si la idea primitiva de una membrana orgánica delgada recubierta de estuche silíceo formado por excreción, ha sido, con razón, abandonada por una concepción más exacta, en la cual la membrana orgánica está íntimamente mezclada á la sílice, la verdadera naturaleza de esta membrana es aún desconocida.

El profesor Mangin ha sido inducido á esclarecer esta cuestión por su serie de observaciones sobre el plankton. La débil silicificación de las valvas en las Diatomáceas pelágicas hace que éstas sean tan frágiles que no pueden ser estudiadas por los procedimientos empleados por los diatomólogos sin romperlas; monsieur Mangin ha tratado de colorear la parte orgánica de las valvas y únicamente ha obtenido resultados satisfactorios determinando la verdadera naturaleza de esta membrana orgánica.

Entre las substancias fundamentales de la membrana se pueden distinguir tres grupos principalmente, por medio de reacciones microquímicas muy claras:

- 1.º *El grupo de las celulosas.*

2.º *El grupo de los compuestos pécticos.*

3.º *El grupo de las callosas.*

Sometiendo las Diatomáceas, tanto las del plankton como las de fondo, á la acción de los diversos reactivos de la membrana, es fácil de comprobar que la membrana de las Diatomáceas no manifiesta ni las reacciones de la celulosa ni las de la callosa.

El profesor Mangin emplea una serie de reactivos muy precisos en sus resultados, preferentemente el *ácido iodhídrico iodado fumante*, que es el único que proporciona resultados ciertos, habiendo examinado, no solamente las Diatomáceas pelágicas, sino también las de fondo pertenecientes á los géneros más diferentes: *Navicula*, *Pleurosigma*, *Surirella*, *Licmophora*, *Amphora*, *Synedra*, etc. En todos los casos la membrana de las Diatomáceas no ha suministrado nunca coloración.

Después de la acción del ácido iodhídrico iodado, las preparaciones son montadas en cloral glicerinado, que es muy refringente. En estas condiciones, las Diatomáceas no dejan ver ningún indicio de la membrana que permanece completamente incolora y se confunde con el medio; si estas Diatomáceas no encerrasen un contenido coloreado en amarillo, serían completamente invisibles en la preparación y se podría creer que no existen.

Es, por lo tanto, fundado declarar que la celulosa falta en la membrana de las Diatomáceas; es una excepción entre las algas, en las que hasta ahora ha sido observada la presencia de esta substancia, asociada frecuentemente á los compuestos pécticos (Desmidiáceas, Conjugadas, Clorofíceas, Feofíceas, etc.), rara vez sola como en las Peridínias.

Por lo que hace á la existencia de la callosa, definida directamente ó después de la acción de los oxidantes, ó seguida de la acción de la potasa cáustica, por sus afinidades para los colorantes azules de trifenilmetano ó por otros colorantes (Congo, Benzoazurina, etc.), la membrana de las Diatomáceas permanece completamente inerte en presencia de estos reactivos; no es posible señalar en ella la callosa como tampoco la celulosa.

Entre las substancias fundamentales de la membrana, cuyas

reacciones colorantes son bien definidas, no nos queda que examinar más que los compuestos pécticos, cuya importancia ha sido demostrada hace tiempo en todos los tejidos vegetales.

Mr. Mangin ha comprobado que estos compuestos fijan los colorantes básicos en medio *neutro*: el azul de metileno, la safranina, el rojo neutro, etc.

Entre estos colorantes, el rojo de rutenio tiene un gran poder de elección y la hematoxilina aluminosa vieja presta igualmente muy buenos servicios.

Pero si se emplean estos reactivos con las Diatomáceas frescas ó conservadas en alcohol no se obtiene coloración ninguna, ó únicamente hay una débil elección de la materia colorante, y sería fácil creer después de este ensayo, casi siempre negativo, que no existen compuestos pécticos en la membrana de las Diatomáceas.

Pero sabemos que la substancia fundamental de las membranas está casi siempre enmascarada en sus reacciones por substancias accesorias, con las cuales está en combinación. Cuando esta combinación es destruída, los reactivos pueden dar resultados positivos.

Mr. Mangin ha pensado que en las Diatomáceas, la sílice que da á las valvas su rigidez, no existe en estado de simple impregnación, sino que constituye una combinación muy íntima con la parte orgánica de la membrana; ¿quizás forme un éter? Cualquiera que sea la naturaleza de esta combinación, Mr. Mangin se ha propuesto destruirla, bien por la acción de la potasa cáustica sola, ó bien por la acción combinada de los oxidantes y de la potasa. A este efecto se hacen macerar los depósitos ricos en Diatomáceas primeramente en una solución de ácido clorhídrico diluído en un volumen igual de agua y adicionada de cristales de clorato potásico; después de veinticuatro horas de acción, el depósito se lava por centrifugación, siendo luego tratado por alcohol absoluto y por la potasa alcohólica en solución siruposa. Después de la maceración en la potasa, el depósito se lava con alcohol ordinario y adicionado de una solución de ácido bórico al 3 por 100, con objeto de neutralizar el exceso de álcali. El depó-

sito blanco obtenido, constituido por los caparazones de las Diatomáceas desprovistos de toda substancia plásmica, se colorea admirablemente por el rojo de rutenio de un modo muy intenso. Yo he obtenido por este medio muy hermosas coloraciones sobre ejemplares del plankton marino de Montpellier y de Banyuls-sur-Mer. Los menores detalles de estructura de las valvas, estrías, perlas, etc., aparecen entonces tan claramente que no es necesario buscar medios muy refringentes ó emplear aumentos fuertes para percibirlos; estos aumentos fuertes no son necesarios, sino para resolver las estrías muy finas de ciertas especies del género *Pleurosigma*. Pero aun en este mismo caso la coloración es tan potente, que no puede existir ninguna incertidumbre sobre la estructura delicada de los frústulos.

Así se encuentra demostrada la existencia de los compuestos pécticos en la membrana de las valvas de las Diatomáceas.

Se puede, pues, deducir de estas observaciones, que en las Diatomáceas la parte orgánica de la membrana está constituida por compuestos pécticos con exclusión de la celulosa y de la callosa.

Esta constitución particular de la membrana distingue las Diatomáceas de todas las otras plantas, puesto que parece ser que no exista otro ejemplo de membrana constituida por los compuestos pécticos solos.

RELACIONES ENTRE LA PARTE ORGÁNICA Y LA PARTE MINERAL DE LA MEMBRANA

Weiss (1) ha sido el primero, no obstante la incertidumbre de sus observaciones, en afirmar que la parte orgánica estaba íntimamente unida á la sílice; pero la imposibilidad de colorear la

(1) A. WEISS: *Zum Baue und der Natur der Diatomaceen*. (*Sitzungsberichte der k. Akademie der Wissenschaft zu Wien*, 1871, tomo LXIII, páginas 83-118, Taf. I und II.)

membrana orgánica no permitía precisar bien las relaciones de los componentes de las valvas de las Diatomáceas. Esta dificultad no existe actualmente y es fácil demostrar que los más finos ornamentos de la membrana encierran á la vez sílice y compuestos pécticos.

Puede tomarse como ejemplo la *Biddulphia mobiliensis*, muy frecuente como especie nerítica ó del plankton cogido á poca distancia de las costas. Esta especie ha sido recolectada por mí en aguas de Banyuls-sur-Mer, en el mes de Septiembre. (*Banyuls-Psc.* 4.)

Se sabe que las valvas presentan una estructura puramente reticulada, debida á la existencia de estrías, las unas orientadas paralelamente al eje valvar, las otras oblicuas con respecto á este eje. Este sistema de estrías se observa claramente en las preparaciones tratadas por ácidos, pero no en las coloreadas por la hematoxilina.

Si se trata la *Biddulphia* por los oxidantes (clorato de potasa y ácido clorhídrico; agua de bromo, hiperclorito de potasa, etcétera), después por la potasa y previa neutralización en solución alcohólica, se colorea por el rojo de rutenio, se obtienen valvas más ó menos plegadas, que se han ablandado por consecuencia de la desaparición de una parte de la sílice, disuelta por la potasa. El sistema de estrías aparece con una gran claridad, aun con objetivos más débiles que los empleados en el examen de frústulos tratados por los ácidos (1). En ciertas preparaciones en que la acción de los reactivos ha sido más prolongada ó bien en ejemplares más delicados, se ve que uno ó aun dos de los sistemas de fibras han sido parcialmente desprendidos, y no queda más que uno representado por los filamentos paralelos al eje, con frecuencia ligeramente ondulados, porque la membrana que persiste es de una gran delicadeza.

(1) Sucede á veces, que las espinas ó ciertas partes de las valvas no se colorean; esto es debido á la abundancia y al espesor de la sílice en estas regiones, que han sido incompletamente disociadas.

Se perciben en estas condiciones un gran número de agujeros pequeños correspondientes á las mallas de la red de fibras, que confluyen después, formando hendiduras paralelas, al sistema de fibras más resistente que está orientado perpendicularmente á las valvas. Este sistema de fibras no representa toda la pared de las valvas, como parece deducirse del examen del esqueleto silíceo, puesto que se puede observar que la trama fibrilar está fija por una membrana continua extremadamente fina, que no presenta en toda la extensión de las valvas ninguna solución de continuidad. No existe, pues, ningún poro sobre las valvas de la *Biddulphia mobiliensis*. Se observan perforaciones más ó menos regulares, pero únicamente, como he dicho antes, cuando la acción de los reactivos ha sido prolongada y ha provocado un principio de disolución de la membrana continua y de los sistemas de fibras que forman la única trama visible sobre el esqueleto silíceo.

La membrana orgánica, ¿está enteramente impregnada de sílice? La experiencia siguiente nos permitirá responder. Si se hacen hervir en una solución de potasa al 4 por 100 sedimentos ricos en Diatomáceas, se disuelven los compuestos pécticos libres, pero la parte de las valvas combinada á la sílice resiste más tiempo; se ve entonces que las valvas no se colorean ya por la hematoxilina, porque lo que queda de la membrana orgánica, estando combinado con la sílice, no tiene elección colorante marcada. Para obtener de nuevo una coloración suficiente, es preciso tratar las Diatomáceas por los oxidantes, y, después de la acción de la potasa alcohólica, las valvas se colorean muy claramente, dando entonces las mismas imágenes que el esqueleto silíceo.

Por otra parte, cuando la hematoxilina se fija sobre las Diatomáceas frescas, la coloración de las valvas es uniforme y los detalles de estructura, que en la *Biddulphia* consisten en una trama fibrilar de mallas muy finas, no aparecen; parece, pues, que una parte de la materia orgánica no está silicificada y esta parte está intercalada entre las fibras y las recubre en un espesor más ó menos grande.

Según esto, hay que distinguir en la membrana dos partes

que se penetran más ó menos: un esqueleto síliceo claramente combinado con la substancia pectósica de la membrana y constituyendo todos los ornamentos que revela el examen microscópico de las valvas calcinadas; luego está la materia pectósica libre, que, penetrando más ó menos en el esqueleto síliceo, forma en la superficie de las valvas una membrana externa pectósica. La existencia de esta membrana externa pectósica no silicificada, parece ser el caso más ordinario. Mr. Mangin ha observado que al colorear las Diatomáceas de fondo según su técnica, por el rojo de rutenio, después de la acción sucesiva del ácido clorhídrico, clorato de potasa y potasa caústica, la membrana anhistá se desprende con frecuencia de la red subyacente que permanece rígida por la presencia de la sílice, formándose entonces ampollas más ó menos grandes sobre los bordes ó caras de las valvas.

En resumen, las valvas de las Diatomáceas están constituidas por una substancia orgánica idéntica á los compuestos pécticos y combinada más ó menos estrechamente con la sílice; el esqueleto síliceo así formado está revestido de una membrana anhistá externa que enmascara con frecuencia, por lo menos en las especies del plankton, los ornamentos característicos, y que es rápidamente disuelta por los reactivos.

Esta estructura explica muchas anomalías observadas principalmente en las Diatomáceas del plankton.

En un gran número de especies de valvas cilíndricas (*Bacteriastrum*, *Leptocylindrus*, *Chaetoceros*, etc.), cuando se tiñen en fresco ó previa fijación por la hematoxilina, no se distingue ningún detalle de la ornamentación. Esto es debido, por un lado, al espesor de la membrana exterior, y por otro á la débil silicificación de las valvas.

MÉTODOS DE COLORACIÓN DE LA MEMBRANA EN LAS DIATOMÁCEAS

Los métodos de coloración en las Diatomáceas varían según que se trate de especies del plankton ó de las de fondo. Las de fondo pueden también ser estudiadas en fresco ó después de la destrucción del contenido y disociación de la membrana.

Ya hemos visto más arriba cómo se procede para colorear las Diatomáceas por el rojo de rutenio después de la destrucción del contenido celular por medio del clorato potásico y el ácido clorhídrico. El rojo de rutenio se emplea en solución acuosa y puede prepararse en el momento de usarla. El sedimento que contiene las Diatomáceas puesto en contacto de esta solución se agita de tiempo en tiempo para obtener una coloración uniforme de toda la masa; al cabo de tres ó más horas se lava en agua destilada y luego con alcohol, conservándolo en esencia de clavo para hacer preparaciones en bálsamo.

Coloración de las Diatomáceas en fresco.—El estudio de las Diatomáceas de fondo es relativamente cómodo, aun de los ejemplares tratados por los ácidos. No ocurre lo mismo con las del plankton, muy frágiles y provistas de cuernos ó prolongaciones que se rompen ó se desprenden fácilmente por causa de su extremada fragilidad.

Cuando se acaba de efectuar una pesca planktónica, bien sea por medio de la manga pequeña de Richard ó por otro medio cualquiera, se puede proceder del modo siguiente, que me ha dado excelentes resultados.

El sedimento obtenido después de lavar la manga en la menor cantidad posible de agua del mar, se adiciona de un volumen igual del líquido fijador, debiendo procederse á esta fijación *inmediatamente* después de efectuada la pesca, para la cual debe disponerse á bordo de los medios necesarios para la preparación del líquido fijador.

Yo he dado la preferencia al fijador Bouin-Dubosq, que es muy penetrante y propio para los organismos delicados. He aquí su fórmula:

Acido acético glacial.....	10 á 15 cm. cúb.
Formol (40 por 100).....	50 —
Alcohol de 70°-75°.....	150 —
Acido pícrico.....	1 gramo.

Este licor debe ser preparado poco tiempo antes de su empleo. Como he dicho, se emplean partes iguales del fijador y del líquido que contiene los organismos que se han de fijar. Después de doce á veinticuatro horas de permanencia en el fijador se lava en alcohol de 70° hasta la desaparición del color amarillo del ácido pícrico, lo cual se consigue al cabo de seis ó siete lavados.

El empleo del fijador Bouin alcohólico tiene el inconveniente de producir numerosas agujas de ácido pícrico que nadan en el líquido y molestan la observación; se puede remediar esto empleando el *Bouin acuoso*, que es el que yo empleo actualmente, y que se prepara mezclando:

Acido pícrico.....	75 cm. cúb.
Formol.....	20 —
Acido acético glacial.....	5 —
Agua destilada.....	75 —

Este fijador tiene la ventaja de que posteriormente á su empleo puede colorearse por el método que vamos á indicar, lo cual no ocurre cuando la fijación ha tenido lugar con los fijadores á base de ácido crómico.

MÉTODO DE COLORACIÓN DE LOS ORGANISMOS VEGETALES DEL PLANKTON

Los organismos que constituyen el fitoplankton son algas de pequeño tamaño, que pertenecen sobre todo á las Diatómáceas y á las Peridínias. Después de los estudios del profesor Mangin,

queda establecido que estos dos grupos difieren profundamente en lo que se refiere á la constitución de su membrana y difieren al mismo tiempo de las otras plantas.

En las Peridínias, la membrana está constituida por la celulosa casi pura, con exclusión casi completa de los compuestos pécticos; en las Diatomáceas, según hemos visto, ocurre á la inversa, puesto que la parte orgánica de la membrana está formada de compuestos pécticos sin indicios de celulosa. El conocimiento de la constitución química de la membrana en estas plantas, permite determinar los reactivos colorantes más activos, capaces de poner en evidencia los más finos detalles de su estructura. Según las investigaciones de Mr. Mangin para la celulosa, los colorantes ácidos completan las observaciones hechas por medio de los reactivos iodados; en tanto que para los compuestos pécticos el empleo de los colorantes básicos es lo más indicado. Estos reactivos proporcionan muy buenos resultados en el análisis cualitativo y cuantitativo del plankton, permitiendo hacer un examen rápido, preciso y completo.

La diferencia de composición de las membranas no permite hacer la observación simultánea de los dos grupos de algas; cuando se colorean las Diatomáceas, las Peridínias resultan incoloras, é inversamente. Es necesario hacer dos series de observaciones para un análisis completo.

Peridínias.—Pueden emplearse indistintamente los reactivos iodados ó los colores de bencidina; pero es preferible emplear el método que vamos á indicar, que proporciona coloraciones dobles muy instructivas, puesto que el protoplasma toma un color distinto del de la membrana. Veamos cómo se procede: La parte del sedimento planktónico destinada al examen de las Peridínias, después de fijada como indicamos más arriba y decantado el alcohol de conservación hasta dejar un centímetro cúbico próximamente de sedimento, se adiciona casi hasta llenar el tubo de una solución de potasa al 5 por 100, y se vierte en un vaso de vidrio de Iena, á fin de hervir con las materias colorantes. Estas pueden ser la azurina brillante y la rosazurina; se toma con

la punta de un bisturí una cantidad de la segunda, del volumen de un grano de alpiste próximamente y el doble de la primera. Se hace hervir durante un par de minutos y se deja después el sedimento, adicionado de agua destilada, en reposo hasta el día siguiente.

Si se emplea la azurina brillante, la membrana de las Peridínias se colorea en azul celeste, y las masas plásmicas más ó menos desorganizadas toman una coloración vinosa. Las preparaciones se conservan en glicerina acuosa, y á fin de evitar se decoloren se añade el sedimento decantado del agua de lavado, una gota de ácido acético glacial, un volumen igual al sedimento de sulfato de cobre al 5 por 100 y se completa con otro tanto de glicerina. En este líquido se conserva y se monta. No puede montarse en bálamo, porque los colorantes se disuelven en el alcohol.

Diatomáceas.—La coloración de las Diatomáceas no puede realizarse en las mismas condiciones que la de las Peridínias, á causa de la diferencia fundamental de constitución de la membrana. Todos los colorantes básicos pueden emplearse con este fin. Para las Diatomáceas frescas ó fijadas con el Bouin, la hematoxilina aluminosa vieja da muy buenos resultados, principalmente si se emplea el alumbre amoniaco, con tal de que el líquido se prepare con seis meses de anticipación.

La fórmula siguiente proporciona muy buenas coloraciones:

Alumbre de amoniaco.....	700
Hematoxilina.....	11,07
Glicerina.....	102,06
Alcohol metílico.....	116

El plankton fijado y conservado en alcohol, se pone en contacto con esta fórmula durante veinticuatro horas; al cabo de este tiempo se lava en agua y se montan las preparaciones en glicerina acuosa ó se deshidrata para montar en bálamo.

La fórmula anterior proporciona muy buenos resultados para observar el conjunto de una pesca planktónica, así como las relaciones de unos individuos con otros que no son destruidas; así que se puede observar muy bien las colonias de *Chaetoceros*,

Bacteriastrum, etc. Cuando se quiere estudiar la estructura íntima de las Diatomáceas del plankton, se hace necesario destruir una parte de la combinación organosilícica de la membrana; pero en este caso, la delicadeza de las membranas no permite emplear, á causa de su débil silicificación, la mezcla de ácido clorhídrico y clorato potásico de que se habló al tratar de las Diatomáceas de fondo.

El sedimento que contiene la pesca planktónica se mezcla á una disolución de hipoclorito potásico, y se tiene en contacto de ella (1 cm. cúbico de sedimento alcohólico por 20-30 cm. cúbicos de hipoclorito) por espacio de una media hora; se diluye la mezcla en un gran volumen de agua y se deja depositar. Una vez decantado el sedimento y lavado con alcohol, se reduce á uno ó dos centímetros cúbicos y se añade una solución alcohólica siruposa de potasa, en cuyo contacto se abandona por diez ó doce horas. Se lava primero con alcohol para quitar el exceso de potasa, después con agua destilada y se neutraliza por el ácido bórico en disolución al 3 por 100. El depósito que así se obtiene puede colorearse por la hematoxilina ó el rojo de rutenio. Se pueden montar las preparaciones en glicerina acuosa ó en bálsamo, previa deshidratación.

Las preparaciones que se obtienen por este método no son nunca tan demostrativas para la determinación de las especies como las que se obtienen por coloración en fresco; la mayor parte de la sílice ha desaparecido y las membranas están ablandadas y frecuentemente rasgadas; los cordones que reúnen en colonias ciertas especies se disuelven, y por consecuencia éstas se disocian, pero se observan por este medio ciertos detalles de estructura de las valvas que no podrían verse por ningún otro, ni siquiera por el de la calcinación, permitiendo rectificar la diagnosis de algunas especies. Sin embargo, el procedimiento operativo es delicado; si la permanencia en el hipoclorito es corta, la coloración no tiene lugar por no haberse disociado la combinación organosilícica, en tanto que si se prolonga demasiado se destruye casi la totalidad de las membranas.

Pescas planktónicas.

Durante mi estancia en los Laboratorios marinos de Banyuls-sur-Mer y Mónaco efectué, siempre que tuve ocasión de ello, diversas pescas planktónicas, á cuyos productos apliqué los métodos técnicos que anteceden. Los aparatos empleados en estas capturas fueron la red de Nansen y la red pequeña de Richard. Mediante la red de Nansen se practica el método de las series de pescas verticales á diferentes profundidades. El plankton recogido de esta manera se somete al examen cualitativo. El cuantitativo es inútil de hacer porque, como ha demostrado Lohmann (1), no vale la pena de contar las cosechas que se hacen con la red de plankton, no siendo ésta capaz de retener todos los individuos contenidos en la capa de agua por ella recorrida.

Por otra parte, las variaciones ocurridas en el plankton durante un período de tiempo en que se efectúan diariamente las observaciones cuando aquéllas son debidas á fenómenos hidrográficos, deben ser bastante intensas para percibir las á simple vista ó por la simple inspección de las muestras capturadas.

Para hacer deducciones de alguna importancia en lo referente á variaciones cualitativas y cuantitativas en el plankton, es necesario hacer dicho examen durante un período de tiempo bastante largo (un año, por ejemplo). Las observaciones aisladas no tienen valor ninguno desde este punto de vista. Por eso, en el rápido examen que doy en esta Memoria, sólo me propongo exponer la técnica de los procedimientos empleados y presentar por vía de ensayo algunos ejemplos aplicados á las muestras que he podido recoger y estudiar durante los cortos períodos de mi permanencia en el Laboratorio de Banyuls y en el de Mónaco.

(1) LOHMANN: *Wissenschaftliche Meeresuntersuchungen. Neue Folge, Abth. Kiel.* Band. VII, 1902.

Plankton de 18 de Septiembre 1912 (Banyuls-sur-Mer).

PESCA NÚM. I (1).

Salimos del puerto á las seis de la mañana á bordo del *Roland*; buen tiempo y mar tranquila; hacemos rumbo al N. buscando fondo de 75 m. para dragar; á las siete y treinta se echa al agua la red grande de plankton, con marcha lenta, y al mismo tiempo que trabaja la draga en el sitio designado en la carta por *Plaine de Tech*.

La masa de plankton fué fijada inmediatamente á bordo, y una vez en el Laboratorio conservada en alcohol de 70°. Habiéndole aplicado después los procedimientos técnicos indicados para cada grupo de algas, el examen microscópico detenido nos ha mostrado la existencia de las especies siguientes:

Peridiniás.

- Ceratium candelabrum* (Ehr.) Stein. (Lám. vi, fig. 3 A.)
C. furca (Ehr.) Duj., var? (Lám. vi, fig. 2 D.)
C. tripos (F. Muller) Nitzsch. (Lám. vi, fig. 1 B.)
C. tripos, forma *atlanticum* Ostensf. (Lám. vi, fig. 1 C.)
C. gibberum Gouurr., forma *sinistrum*. (Lám. vi, fig. 1 A.)
C. massiliense Gouurr. (Lám. vi, fig. 3 B.)
C. massiliense Gouurr., var. *protuberans* (Karst.). (Lám. vi, figura 3 C.)
C. reticulatum Pouch. (Lám. vi, fig. 2 A.)
Peridinium divergens Ehr. (Lám. viii, fig. 2 C.)

(1) En realidad, fué la tercera salida que hice á bordo del *Roland*, pero sólo enumero las en que se hizo pesca de plankton, por ser las que á mi objeto interesan. Los restantes días, no disponiendo de la manga Richard, que permite pescar con todas las velocidades y estados del mar, no se efectuó dicha pesca.

La masa del plankton aparece formada, en cuanto á las peridínias, por el *Ceratium massiliense* y el *Peridinium divergens*, siendo las demás especies relativamente escasas, sobre todo el *C. reticulatum*, que es raro.

La parte del material planktónico destinada al estudio de las Diatomáceas, nos ha puesto en evidencia las siguientes:

- Chaetoceros decipiens* (1). (Lám. IX, fig. 1 A.)
Bacteriastrum varians Lander. (Lám. IX, fig. 3 A.)
Rhizosolenia imbricata Bright. (Lám. IX, fig. 2 D.)
Asterolampra Marylandica Ehr., forma mediterránea *heptaradiata*. (Lám. IX, fig. 2 A.)

Plankton del 26 de Septiembre (Banyuls-sur-Mer).

PESCA NÚM. 2.

Salida á las siete de la mañana á bordo del *Roland*; buen tiempo y mar tranquila, rumbo al S. A las ocho se echa al agua la red de plankton, mientras trabaja el *chalut* frente á la frontera de España; á las nueve y treinta minutos se recoge y fija el contenido, en el cual he observado las formas siguientes:

Peridínias.

- Ceratium tripos*? (O. F. Muller), Nitzsch.
C. gibberum Gouss., forma *sinistrum*.
C. platycorne Daday, var.? (Lám. VIII, fig. 1 A.)
C. pulchellum Schröd. (Lám. VII, fig. 4 B.)
C. arietinum Cl. (Lám. VIII, fig. 1 B.)
C. candelabrum (Ehr.) Stein. (Lám. VI, fig. 3 A.)
C. massiliense (Gouss.). (Lám. VI, fig. 3 B.)
C. massiliense, var. *protuberans* (Karst.). (Lám. VI, fig. 3 C.)
C. gracile (Gouss.), var. *symmetricum* (Pavill.). (Lám. VII, fig. 3 A.)
C. fusus (Ehr.) Duj.

(1) Fragmento de una cadena de individuos.

Diatomáceas.

- Thalassiotrix Frauenfeldii* Grun. (Lám. IX, fig. 1 B.)
Chaetoceros decipiens (1). (Lám. IX, fig. 2 B.)
Chaetoceros sp.?
Rhizosolenia imbricata Bright.
Rh. Stortefothii. (Lám. IX, fig. 3 B.)
Hemiaulus Hauckii.
H. sp.?
Asterolampra Marylandica Ehr., forma mediterránea *heptardiata*. (Lám. IX, fig. 2 A.)

Plankton del 1.º de Octubre 1912 (Banyuls-sur-Mer).

PESCA NÚM. 3.

Salimos en el *Roland* á las siete de la mañana; cielo casi despejado y mar gruesa de fondo. Hacemos rumbo al NE., calando el *chalut* á las nueve por fondo de 300 m. La pesca planktónica se compone de las especies siguientes:

Peridiniás.

- Peridinium divergens* Ehr. (Lám. VIII, fig. 2 C.)
Ceratium pentagonum Gourr, var. *turgidum*. (Lám. VI, fig. 4 B.)
C. candelabrum (Ehr.) Stein. (Lám. VI, fig. 3 A.)
C. gracile? (Gourr). (Lám. VII, fig. 3 B.)
C. platycorne Daday, var.? (Lám. VIII, fig. 3 A.)
C. trichoceros (Ehr.) Kof. (Lám. VI, fig. 2 C.)
C. fusus (Ehr.) Duj., subsp. *seta* (Ehr). (Lám. VI, fig. 2 B.)
C. declinatum Karst. (Lám. VII B.)
C. gibberum Gourr., f. *sinistrum*.
C. reticulatum Pouch. (Lám. VI, fig. 2 A.)
C. macroceros (Ehr.) Cleve.
Goniodoma, sp? (Lám. VIII, fig. 2 A.)

Diatomáceas.

- Chaetoceros decipiens*. (Lám. IX, fig. 2 B.)
Hemiaulus Hauckii? (2). (Lám IX, fig. 4 D, d.)

(1) Individuo aislado.

(2) D, individuo de frente; d, íd. de perfil.

Asterolampra Marylandica Ehr., forma mediterránea *heptardiata*.

Como se ve, corresponde á este día un *mínimum* de Diatomáceas, sin duda determinado por las condiciones resultantes del temporal habido los días precedentes.

Plankton 3 de Octubre (Banyuls-sur-Mer).

PESCA NÚM. 4.

Salida del puerto á las seis de la mañana; viento fuerte del NE., y mar rizada. Hacemos rubo al NE.; á las ocho y treinta minutos se echa el *chalut*. A las once se trata de izarlo á bordo, y después de ruda maniobra que expuso á la tripulación á serios peligros, se rompió el cable de arrastre á causa de la fuerte marejada, perdiéndose el *chalut*.

La pesca planktónica al abrigo de la costa, fué de las más productivas, dando las siguientes especies:

Peridiniás.

- Ceratium gibberum* Gourr., forma *sinistrum*.
C. massiliense (Gourr.). (Lám. vi, fig. 3 B.)
C. pentagonum Gourr., forma *robustum* (Cl.). (Lám. vi, fig. 4 C.)
C. reticulatum Pouch.
C. declinatum Karst., var.?
C. gracile Gourr., var. *symmetricum* (Pavillard). (Lám. vii, fig. 3 A.)
C. macroceros Pavillard. (Lám. vii, fig. 1.)
C. lunula Schimp, forma *megaceros*. (Lám. viii, fig. 3 A, a.)
C. arcuatum (Gourr.), Pavill.
C. longinum Karst. (Lám. vii, fig. 4 A.)

Diatomáceas.

- Thalassiothrix Frauenfeldii* Grun. (Lám. ix, fig. 1 B.)
Chaetoceros decipiens.
Chaetoceros sp.?
Bacteriastrum varians Lander. (Lám. ix, fig. 3 A.)

- Hemiaulus Hauckii*. (Lám. IX, fig. 4 D, d.)
Dactyliosolen tennuis. (Lám. IX, fig. 4 C.)
Rhizosolenia Stortterfothii. (Lám. IX, fig. 3 B.)
Detonula Schröteri? (Lám. IX, fig. 3 C.)
Biddulphia mobiliensis Bailey. (Lám. IX, fig. 4 A.)
B. Sinensis? (Lám. VIII, fig. 3 C.)

La lista que antecede demuestra que fué ésta una de las pescas más ricas en especies, por lo menos en lo que hace á las Diatomáceas. Corresponde, pues, á este día un máximum de Diatomáceas durante la época en que yo permanecí en Banyuls-sur-Mer.

*
* *

En aguas de Mónaco he efectuado también algunas pescas de plankton, aprovechando al efecto algunas salidas del pequeño vapor que posee el Museo Oceanográfico para su servicio y el de los investigadores que en él trabajan.

Con motivo de una serie de sondeos llevados á efecto en aquellas costas por Mr. Chevalier, del Laboratorio de Mr. Toulet, de Nancy, con el fin de completar la carta de aquella región, y aprovechando al propio tiempo los consejos del sabio Director del Museo, Mr. Richard, que nos acompañó en estas salidas, verifiqué una serie de pescas de plankton en días sucesivos ó muy próximos, por lo cual se observa la poca variación cualitativa en las especies capturadas.

Hay, además, un fenómeno notable que observar: se refiere á la ausencia casi total de Diatomáceas en estas pescas, lo cual puede atribuirse á una disminución importante en el grado de salinidad de la capa superficial de agua en que fué efectuada la pesca. Este fenómeno es, sin duda, imputable á las fuertes lluvias que precedieron á los días que se mencionan en estas notas.

Plankton del 14 de Abril de 1913.

(Entre Mónaco y Villefranche.)

ESTACIÓN NÚM. 2.180 DEL MUSEO DE MÓNACO.

Salimos á bordo del *Eider* á las siete y media; cielo despejado, brisa fresca del NE. y mar rizada. Rumbo al SW. A la salida se echa la manga Richard y se recoge frente á Niza para dar principio á los trabajos de sondeo. Al regreso vuelve á echarse la manga de plankton hasta el puerto. He aquí las especies capturadas:

Peridiniás.

Ceratium candelabrum Ehr. Muy abundante. (Lám, vi, fig. 3 A.)

C. furca (Ehr.) Duj., var. ? también abundante.

C. tripos (O. F. Müller) Nitzsch. Más raro que los anteriores.

C. declinatum Karts. Muy abundante.

C. gracile Gourr., var. *simmetricum*. Raro. (Lám. vii, fig. 3 A.)

C. macroceros (Ehr.) Cleve. No muy abundante.

C. gibberum Gourr., f.^a *sinistrum*. Como el anterior.

C. fusus (Ehr.) Duj., subsp. *seta*. No abundante.

C. sp.?

C. arcuatum (Gourr.), Pavillard.

Goniodona sp.? Rara. (Lám. viii, fig. 2 A.)

Diatomáceas.

Asterolampra Marylandica Ehr., forma mediterránea *heptaradiata*. Rara.

A. Grevillei. Rara.

Coscinodiscus sp.?

Biddulphia Sinensis ? (Lám. viii, fig. 3 B.)

Peragallosa sp.? (Lám. ix, fig. 4 B.)

Rhizosolenia stiliformis (Lám. ix, fig. 2 C.)

Como se observa, hay un minimum considerable en estas algas, faltando por completo los *Chaetoceros* y *Rhizosolenia*, que suelen ser de ordinario tan abundantes hasta constituir á veces

la masa principal del plankton. Durante este minimum de Diatomáceas, son las especies indicadas arriba las únicas que resisten á las condiciones del medio. A veces, como se verá en otras pescas, faltan también.

Plankton del 19 de Abril.

ESTACIÓN NÚM. 2.242.

Salida en el *Eider* á las siete de la mañana; brisa del SE. y algo de mar de fondo. Rumbo á la frontera italiana para continuar la línea de sondeos. Al salir se arrastra la red pequeña de Richard hasta la frontera.

Peridínias.

- Peridinium divergens* Ehr. Muy abundante. (Lám. VIII, fig. 2 C.)
Ceratium fusus Ehr. Duj., subsp. *seta*. Raro.
C. declinatum Karst. Muy abundante. (Lám. VII, fig. 2 B.)
C. gracile Gouss., var. *symmetricum*. Raro.
C. arcuatum (Gouss.) Pavill. Raro. (Lám. VII, fig. 2 A.)
C. furca (Ehr.) Duj. Muy abundante.
C. candelabrum Ehr. Muy abundante. (Lám. VI, fig. 3 A.)
C. macroceros (Ehr.) Cleve. No muy abundante.
C. Gibberum Gouss. Como el anterior.
 ? (1). (Lám. VIII, fig. 10 B.)
C. pentagonum Gouss. Como el anterior.
C. pentagonum, var. *robustum* (Cl.). Raro. (Lám. VI, fig. 4 C.)
C. tripos (O. F. Muller) Nitzsch. Abundante.
C. tripos, forma *atlanticum* Ostenf. Abundante.
C. gracile? Gouss.
Goniodoma sp.? (Lám. VIII, fig. 2 A.)

Diatomáceas.

- Coscinodiscus* sp.?
Asterolampra Marylandica Ehr., forma mediterránea *heptardiata*. Rara.

(1) Género desconocido y difícil de interpretar por su espesor y convexidad.

Al regreso vuelve á echarse la red de Richard (estación número 2.259) con rumbo á Mónaco, y se anota en la pesca la pequeña variación siguiente:

Peridiniás.

- Peridinium divergens* Ehr. (Lám. VIII, fig. 2 C.)
Ceratium candelabrum Ehr.
C. furca Ehr., Duj.
C. fusus (Ehr.) Duj, subsp. *seta*.
C. gibberum Gourr.
C. macroceros Ehr., Cleve.
C. declinatum Karst. (Lám. VII, fig. 2 B.)
C. gracile Gourr., var. *simmetricum*. (Lám. VII, fig. 3 A.)
C. arcuatum (Gourr.) Pavill. (Lám. VII, fig. 2 A.)
C. tripos, forma *atlanticum*.
C. pentagonum Gourr.
C. platycorne, var.? Raro.
C. reticulatum Pouch. Raro.

Diatomáceas.

- Asterolampra Marylandica* Ehr., forma mediterránea *heptardiata*.
A. Grevillei.
Coscinodiscus sp.?

La masa principal del plantkon aparece formada por radiolarios que, de igual modo que los crustáceos, aparecen muy bien coloreados y sin sufrir la menor alteración por consecuencia de la técnica empleada para el fitoplankton. Esto hace que el procedimiento permita conservar todos los seres constituyentes del plankton, siendo, por tanto, doblemente útil.

Plankton del 28 de Abril.

Salida á las siete y treinta de la mañana; cielo despejado, brisa débil del ENE. y mar tranquila.

En este día Mr. Richard se puso amablemente á mi disposi-

ción para que viese efectuar todas las operaciones oceanográficas que tienen lugar á bordo. Se hizo rumbo á la estación núm. 2 del Museo, situada á 6.300 m. de éste y alineada con él. Se echó al agua la red pequeña de plankton, y se recogió una vez llegados á la citada estación. En ésta se hizo una toma de agua con la botella Richard, á la cual va unido el termómetro reversible Richter, que nos da al mismo tiempo la temperatura de la capa de agua en que se ha tomado la muestra. En este día se ensayó un fotómetro nuevo de Mr. Grain, del Laboratorio de Nápoles.

Llegados al Laboratorio, comprobé la existencia de las especies siguientes en el plankton:

Peridínias.

Peridinium divergens Ehr. Muy abundante. (Lám. VIII, fig. 2 C.)
Peridinium sp.?

Ceratium candelabrum (Ehr.), Stein. Abundante.

C. furca (Ehr.), Duj. Abundante.

C. fusus, subsp. *seta*. (Ehr.). Menos abundante que los anteriores.

C. declinatum Karst. Muy abundante.

C. Macroceros Pavillard. Raro. (Lám. VII, fig. 1.)

C. pulchellum Schröd. Raro. (Lám. VII, fig. 4 B.)

C. pentagonum Gouss. Raro.

C. tripos (O. F. Muller) Nitzsch. Raro.

Las diatomeáceas faltan por completo en esta pesca, ó por lo menos escapan á la observación por corresponder á este día el *minimum* durante mis observaciones en Mónaco.

PROCEDIMIENTOS QUÍMICOS APLICADOS AL ESTUDIO DEL AGUA DEL MAR

Los trabajos que me proponía efectuar con el nombre de PROCEDIMIENTOS OCEANOGRÁFICOS se refieren principalmente á la determinación de la salinidad y alcalinidad del agua marina. Estos estudios han sido hechos en el Museo Oceanográfico de Mónaco

bajo la dirección del profesor Oxner, encargado de la sección de Química del mar, el cual se ha prestado amablemente á iniciarnos en la marcha detallada de estas delicadas manipulaciones.

Salinidad.

La importancia concedida á su papel biológico me ha parecido justificar algunas observaciones encaminadas á adquirir la práctica de las operaciones necesarias á su determinación.

La salinidad del agua del mar puede determinarse por varios procedimientos, de los cuales, el más sencillo y que se emplea en casi todos los Laboratorios, consiste en calcular su valor en función de la cantidad de cloro contenida en un volumen dado de agua: el cloro es, en efecto, el elemento más abundante, y también el más cómodo de dosificar con precisión.

Se dosifica el cloro contenido en 20 cent. cúb. de agua, medidos con una pipeta Knudsen, por medio de una solución titulada de nitrato de plata (250 gr.) en agua destilada (6.370 cent. cúbicos), sirviéndose del cromato de potasa como reactivo indicador.

Se ejecuta una serie de cinco análisis y después un análisis de agua normal.

Por este medio se dosifica directamente el cloro de una manera sencilla, rápida y muy exacta. De esta cantidad de cloro se deduce, por medio de las «Hidrografische Tabellen», la densidad y la salinidad, verdaderas características del agua de mar.

No entro en la descripción del aparato empleado ni de los detalles de la operación, por haber sido esto objeto de una relación muy completa en una Memoria ya publicada (1).

Los datos referentes á la determinación de la alcalinidad, que expongo á continuación, y la descripción del procedimiento, me han sido igualmente facilitados por el Profesor Oxner.

(1) BUEN Y LOZANO (R. DE): *El Museo Oceanográfico de Mónaco y los trabajos en él realizados*, por ... (Anales de la Junta para Ampliación de estudios, tomo V, Memoria 5.^a, Madrid, 1912.)

MEDIDA DE LA CONCENTRACIÓN EN IONES-HIDRÓGENO DEL AGUA DEL MAR

Alcalinidad.

Como consecuencia de las investigaciones hechas en estos últimos años sobre la fauna y flora marinas, los conocimientos de la naturaleza química y física del agua del mar han tomado un nuevo interés, porque se ha reconocido que las acciones vitales de los animales marinos, son influenciadas en alto grado por las más pequeñas modificaciones en la composición y estado del agua en que viven estos animales.

En lo concerniente á la influencia preponderante que ejerce la concentración en iones-hidrógeno sobre los procesos biológicos que tienen lugar en el agua del mar, resaltan numerosas experiencias efectuadas por Loeb sobre la evolución de los huevos de diversos animales marinos. Como ejemplo característico, se cita el hecho de que los huevos partenogenéticos de *Strongilocentrotus* no se desarrollan sino imperfectamente en el agua relativamente ácida tomada en el Océano Pacífico, y que, por otra parte, la del Atlántico ha dado siempre un desarrollo abundante de larvas. El agua de este último mar se colorea ligeramente de rojo por la fenoltaleína, en tanto que la del Océano Pacífico no es coloreada y que con el rojo neutro toma un tinte anaranjado. La concentración en iones-hidroxilo de esta última, es evaluada por Loeb en $10 + 6$ (equivalentes-gramos de hidroxilo, bajo la forma de iones por litro).

La importancia de esta concentración para los fenómenos biológicos de otros órdenes, ha sido establecida igualmente.

Antes que los biólogos, los hidrógrafos habían dirigido su atención sobre la medida de la reacción del agua del mar. Varios sabios, entre los cuales Bibra (1), Guignet, Telles (2) y Tor-

(1) LIEBIGS': *Annalen*, 77,90 (1851).

(2) *Compt. rend. de l'Acad. des Sc.* 83, 920 (1876).

noe (1), habían ya encontrado, hace mucho tiempo, que el agua del mar acusaba una reacción claramente alcalina, aunque débil. Más tarde, Natterer (2) ha observado que el agua de la parte Este del Mediterráneo se colorea en rojo por la fenoltaleína, y comparando los tintes rojos, ha comprobado que el agua del fondo es menos alcalina que la de la superficie.

Ringer, que es el primero que ha medido cuantitativamente la reacción del agua salada y que ha efectuado numerosas medidas electrométricas en agua del mar del Norte, así como del Zuydersee y del Fjord Bømmel, ha encontrado que estas aguas eran débilmente alcalinas; la concentración en iones-hidrógeno se encontraba comprendida entre $0,58 \times 10 : 8$ y $1,40 : 8$. Antes de ser medidas las muestras de agua examinadas, habían sido conservadas durante algún tiempo en botellas, lo que, como veremos luego, puede ocasionar una modificación apreciable en la concentración iónica. Siendo así que el agua del mar contiene una cantidad notable de bicarbonatos y de ácido carbónico libre, no se puede, para hacer la medida electrométrica, hacer pasar una corriente de hidrógeno, porque entonces el ácido carbónico sería expulsado y el agua se transformaría en alcalina.

La determinación puede efectuarse de una manera mucho más rápida y cómoda por medio del método colorimétrico, tal como ha sido elaborado y descrito por S. P. L. Sorensen, en sus estudios encimáticos (3) y que, especialmente á fin de servir para el examen de las aguas saladas, ha sido perfeccionado y ensayado por el autor con la colaboración de Palitzch (4). Este método, que está basado sobre el hecho de que el color de los reactivos indicadores cambia de una manera gradual con la concentración en iones-hidrógeno del medio, permite efectuar una determinación realmente cuantitativa de la concentración iónica del agua

(1) *Den norsk Nordhavsekspedition*, 1876 á 1878. 1, 27 (1880).

(2) *Verhandelingen mit het Rijksintituut voor het onderrock der zee* (1908).

(3) *Compt. rend. des trav. du Lab. de Carlsberg*. 8, 1 (1909).

(4) *Idem id. id.* 9, 8 (1910).

salada, valiéndose de ciertos líquidos de comparación. Se emplean para este fin soluciones de ciertas sustancias de composición poco compleja y que se pueden preparar en un grado suficiente de pureza, cuya concentración en iones-hidrógeno puede ser determinada con precisión por el método electrométrico.

Por medio de un reactivo indicador conveniente se colorea una muestra de agua, así como un cierto número de líquidos de comparación, cuya concentración iónica se aproxima á la del agua en cuestión; comparando los diferentes tonos se encontrará sin dificultad el del líquido de comparación, que tiene igual ó muy próxima concentración iónica que el agua que se examina.

Dado que el agua del mar es, por decirlo así, incolora y que no contiene materias coloides, se presta eminentemente á la medida colorimétrica; únicamente su fuerte proporción de sales tendrá por efecto que el llamado *error de sal* jugará un papel preponderante. La mayor parte de los indicadores, en efecto, cambian de tono como consecuencia de una adición abundante de sal, lo cual es debido, no sólo á que esto último modifica la concentración iónica, sino también al hecho de que el color de casi todos los indicadores es influido por las sales independientemente del efecto de los iones-hidrógeno. Sin embargo, como la mayor parte de las sales del agua del mar está constituida por el cloruro de sodio, y que la proporción existente entre estas sales permanece casi constante, aunque la cantidad de éstas varíe, se podrá en este caso salvar la dificultad buscando una corrección que es necesario añadir á P_{H}^{\pm} encontrados (1), ó restar para llegar al P_{H}^{\pm} real. Comparando los valores establecidos por medida electrométrica con los obtenidos por una misma agua de mar siguiendo el método colorimétrico, S. P. L. Sorensen y S. Palitzsch han encontrado el error de sal para los indicadores siguientes: fenoltaleína, α naftoltaleína, rojo neutro y π nitrofenol, y han reunido las correcciones bajo forma de cuadros sinópticos.

Simultáneamente Sorensen y Palitzsch han determinado la

(1) *Compt. rend. des trav. du Lab. Carlsberg*, 8, 28 (1909).

concentración en iones-hidrógeno de un ciento de muestras de agua de mar, que, durante el tiempo transcurrido desde la toma, habían sido conservadas en botellas cerradas.

Insisten, sin embargo, sobre el hecho de que sus determinaciones no hacen conocer la concentración de los iones-hidrógeno que tenían las muestras en el momento de ser tomadas. Dejadas las muestras en reposo en botellas á medio llenar, se hacen rápidamente más alcalinas.

En efecto; la cantidad de carbonatos y bicarbonatos contenida en el agua tomada en muestras y que se separa del resto, no es la misma para mantener constante el número de iones-hidrógeno.

Se deduce de esto cuán importante es hacer los ensayos inmediatamente de tomar las muestras, por lo cual es indispensable llevar una instalación á bordo.

MEDIDAS DE LA CONCENTRACIÓN EN IONES-HIDRÓGENO DEL AGUA DEL MAR, EFECTUADAS DURANTE EL CRUCERO DEL VAPOR «THOR»

Durante el crucero de cinco meses (verano 1910) que hizo en el Archipiélago de Feroe, el Atlántico y el Mediterráneo el vapor *Thor*, perteneciente al Estado danés, destinado principalmente á las investigaciones oceanográficas, fué posible ejecutar determinaciones de la concentración en iones-hidrógeno del agua de mar, á bordo, é inmediatamente de tomada la muestra, según hemos visto conviene hacer para obtener resultados seguros.

Para estas investigaciones se empleó el método de medida colorimétrico, porque, como hemos explicado antes, se aplica de una manera cómoda y rápida á bordo aún con mar gruesa, en tanto que el método electrométrico exige un dispositivo complicado y montado sobre una base insensible á las sacudidas, lo cual hace este método inaplicable á bordo. Como reactivos indicadores se emplearon la fenoltaleína y la naftoltaleína, y como

líquidos de comparación mezclas de soluciones de boratos y ácido clorhídrico.

A título de ejemplo citaremos algunas medidas efectuadas en el Mediterráneo, el Océano Atlántico, el Mar del Norte y el Mar Negro. En el Mediterráneo se ha encontrado, por ejemplo, á los 40° 05' N., 11° 31' E. (entre Cerdeña é Italia), los valores siguientes de P_{H}^{\pm} :

<i>Profundidad en metros...</i>	0	50	100	200	400
P_{H}^{\pm} : hallados.....	8,23	8,23	8,21	8,19	8,17
<i>Profundidad en metros...</i>	800	1.000	1.200	1.500	2.500
P_{H}^{\pm} : hallados.....	8,17	8,14	8,14	8,12	8,07

Casi en todo el fondo del mediterráneo se ha encontrado una proporción de P_{H}^{\pm} oscilando entre 8,07 á 8,09; de suerte que el agua es todavía tan alcalina, que puede justamente colorearse débilmente por una fuerte dosis de fenoltaleína.

DETALLES RELATIVOS Á LA EJECUCIÓN PRÁCTICA DE LA MEDIDA DE LA CONCENTRACIÓN EN IONES-HIDRÓGENO DEL AGUA DEL MAR

La aplicación del método de medida por colorimetría á bordo del vapor *Thor*, ha demostrado plenamente las excelencias de este método. En la exposición detallada que vamos á dar, nos limitaremos á indicar principalmente todos los hechos de mayor importancia desde el punto de vista de la aplicación cómoda y precisa de este método á bordo.

Encontrándose comprendida la concentración de iones-hidrógeno del agua del mar entre $P_{\text{H}}^{\pm} = 7,95$ y $P_{\text{H}}^{\pm} = 8,35$, basta emplear mezclas de boratos y ácido clorhídrico, y como reactivos indicadores la naftoltaleína y la fenoltaleína. Mezclas fosfáticas no han sido empleadas sino para muestras que provenían del Mar Negro y que contenían ácido sulthídrico.

Las soluciones de los reactivos indicadores fueron preparadas

disolviendo 0,2 gr. de naftoltaleína ó 0,5 gr. de fenoltaleína en 500 c. c. de alcohol de 93 por 100, completando el volumen hasta medio litro con agua.

El ácido clorhídrico al 1/10 había sido valorado cuidadosamente por el oxalato de sodio.

La solución de boratos fué preparada disolviendo 0,2 moléculas-gramos de ácido bórico (12 gr. 404) en 10 c. c. de solución normal de hidróxido de sodio, diluyendo después hasta un litro con agua hervida.

El ácido bórico empleado llenaba las condiciones exigidas por S. P. L. Sorensen (1) desde el punto de vista de su pureza.

Para las dos soluciones fué empleada el agua destilada, hervida en un matraz de cobre estañado para expulsar el anhídrido carbónico.

A fin de evitar que el anhídrido carbónico del aire se pusiese en contacto con el líquido al atravesarlo desde el globo que contiene la medida exacta á la botella de conservación, se hace atravesar el tapón del globo por dos tubos, uno largo y otro corto, de tal modo que el aire de la botella de conservación, previamente desprovisto de su anhídrido carbónico, subiese á través del primero de los dos tubos, y que el líquido descendiese por el segundo sin ser expuesto á la influencia del anhídrido carbónico del aire exterior. El aire encerrado en los globos, botellas y pipetas utilizados es privado de su anhídrido carbónico, haciéndole pasar antes por una fuerte disolución de hidróxido potásico y lavado después en agua.

La lejía de sosa destinada á la preparación de la solución de los boratos, que no debe contener carbonatos, se prepara disolviendo 100 gramos de hidróxido de sodio en 125 c. c. de agua contenida en un cilindro estrecho cerrado por un tapón de vidrio.

Como en una lejía tan fuertemente concentrada el carbonato de sodio es completamente insoluble y se deposita al cabo de

(1) *Compt. rend. des travaux du Lab. de Carlsberg*, 8, 40. (1909).

dos ó tres días, el líquido claro que sobrenada estará completamente exento de carbonato y podrá fácilmente decantarse con una pipeta.

Las disoluciones son preparadas antes de salir al mar. Comparadas al regreso á tierra las mezclas empleadas, se encuentra que no han sufrido ninguna modificación sensible. Las botellas en que los líquidos de comparación habían sido conservados, fueron cerradas con un tapón de caucho atravesado por dos tubos. Uno de ellos llega al fondo y sirve para llenar la bureta; el otro está cargado de cal sódica, sirviendo para privar del gas carbónico el aire que entra en la botella. Las buretas empleadas se llenan por la parte inferior, y en la superior están provistas de un tubo lleno de cal sódica destinada á retener el gas carbónico del aire que ha de sustituir al del interior al vaciar la bureta.

Sería poco cómodo y aun imposible á veces mezclar los líquidos de comparación durante la navegación. Esto se evita sirviéndose de botellas de una capacidad de 150 c. c. próximamente, que se llenan antes de salir del puerto.

La mezcla que se empleó con mayor frecuencia fué de 5,6, 5,7, 5,8, 6,0, 6,2, 6,4, 6,7 c. c. de borato y 4,4 c. c. de ácido clorhídrico. Midiendo de una vez 150 c. c. en lugar de 10 c. c. cada vez, se ha obtenido un alto grado de precisión, porque entonces un error de 0,1 c. c. no significa sino una modificación casi imperceptible de $P_{\frac{H}{H}}$. Las botellas van provistas de un tapón atravesado por dos agujeros: por uno de estos se hace pasar un tubo de vidrio con cal sodada granulada; por el otro se hace pasar un tubo que llega hasta el fondo, y cuyo extremo superior se cierra con un tubito de caucho y una barrita de vidrio. Cuando hay que servirse de los líquidos de comparación se sustituye la barrita de vidrio por una pipeta de 10 c. c.; llenando la pipeta por succión, se hace pasar el aire que entra en la botella por el tubo con cal sodada para privarle del gas carbónico.

Las botellas colocadas en una caja de madera se fijan con alambre, que ocupa y pesa menos que los tabiques de madera.

Mientras tiene lugar la comparación de colores, se colocan las

probetas sobre un soporte dispuesto de modo que formen ángulo de 45° con la mesa. El soporte se cubre de tela encerada de un blanco mate, á fin de que los colores puedan mirarse sobre un fondo claro. Es necesario emplear tela encerada con celuloide, porque el papel se estropea con la humedad, que es inevitable á bordo.

Las probetas deben mantenerse cerradas por tapones de corcho á fin de impedir la entrada del polvo, y, por otra parte, para evitar la influencia del gas carbónico del aire atmosférico, influencia que es generalmente de poca importancia por lo concerniente al agua del mar, cuya tensión de gas carbónico es casi igual á la de la atmósfera.

Las probetas que se emplean son de vidrio incoloro y de paredes delgadas, y su diámetro debe ser de 21 á 22 mm.; sin esto, la comparación sería difícil, puesto que variaríá la altura y espesor del contenido.

En la probeta destinada á contener la muestra de agua de mar, se marca por medio del ácido fluorhídrico un trazo circular á una altura tal, que el agua vertida en ella hasta esta señal, tenga un volumen de 10 c. c. Al agua directamente tomada del mar, se le añade, de un frasco cuentagotas cerrado con tapón esmerilado, vi gotas de naftoltaleína ú viii gotas de fenoltaleína. Después de haber colocado la bureta entre los líquidos de comparación, se procede á la determinación colorimétrica, según el método habitual (1).

El error á que este procedimiento puede dar lugar, no pasa probablemente $\pm 0,04$ en el valor de P_{H}^{\pm} .

Después de haber determinado cuál es el licor de comparación que tiene el tono más próximo al del agua examinada, se encuentra en P_{H}^{\pm} de esta última por medio de las tablas I y II (2), donde los valores de P_{H}^{\pm} de los líquidos de comparación, valores corregidos relativamente á los errores de sal, se encuentran calculados para 35 por 1.000 y 20 por 1.000 de sal.

(1) *Compt. rend. des trav. du Lab. de Carlsrberg*, 8, 67 (1909).

(2) *Idem id. id.*, 9, 21 (1910).

CUADRO I
MEZCLAS DE BORATOS.—A) NAFTOLTALEÍNA

COMPOSICIÓN DE LA MEZCLA DE BORATOS		INDICACIÓN DE LOS IONES-HIDRÓGENO DE LA MEZCLA BORATADA	
		No corregido.	Corregido en vista del error de sal del indicador. 35 por 100 de sal (corr. = : 0,22). 20 por 100 de sal (corr. = : 0,17).
5,25	centímetros cúbicos de borato : 4,75 centígrados C/H.....	7,62	7,40
5,3	» » : 4,7 »	7,71	7,49
5,4	» » : 4,6 »	7,84	7,54
5,5	» » : 4,5 »	7,94	7,62
5,6	» » : 4,4 »	8,03	7,72
5,8	» » : 4,2 »	8,17	7,81
5,0	» » : 4,0 »	8,29	7,95
			8,07
			7,45
			7,54
			7,67
			7,77
			7,86
			8,00
			8,12

CUADRO II
MEZCLAS DE BORATOS.—B) FENOLTALEÍNA

COMPOSICIÓN DE LA MEZCLA DE BORATOS		INDICACIÓN DE LOS IONES-HIDRÓGENO DE LA MEZCLA BORÁTICA	
		No corregido	Corregido en vista del error de sal del indicador. 35 por 100 de sal (corr. = : 0,21). 20 por 100 de sal (corr. = : 0,16).
6,0	centímetros cúbicos de borato : 4,0 centígrados C/H.....	8,29	8,08
6,25	» » : 3,75 »	8,41	8,20
6,5	» » : 3,5 »	8,51	8,30
6,75	» » : 3,25 »	8,60	8,39
7,0	» » : 3,0 »	8,68	8,47
7,25	» » : 2,75 »	8,74	8,53
7,5	» » : 2,5 »	8,80	8,59
8,0	» » : 2,0 »	8,91	8,70
			8,13
			8,25
			8,35
			8,44
			8,52
			8,58
			8,64
			8,75

APÉNDICE

Nota de algunas Diatomáceas de fondo procedentes de Baleares, preparadas y clasificadas en el Laboratorio Arago de Banyuls-sur-Mer (1).

1.—Rafídeas.

(**Pennatae** Schmitt.)

Valva que se desarrolla según un eje longitudinal. (Grun, 1860.)
Diatomáceas bilaterales con verdadero rafe, aparente ú oculto, y dotadas de motilidad espontánea.

I.—Eu-rafídeas.

(**Rafídeas** H. L. Schmitt 1872.)

Valvas provistas de un verdadero rafe aparente, y tres nódulos colocados en línea recta.

A.—Bi-Rafídeas (H. V. H.).

Cada una de las valvas con un verdadero rafe.

Amphora Ehr.

Amphora commutata Grun. Bahía de Palma, en intestinos de *Holothurias* pescadas en un dragado verificado en el centro de la bahía. Pesca núm. 22 del Laboratorio (2), preparación núm. 17.

(1) La clasificación aquí adoptada es la que sigue Van Heurck en sus *Diat. de l'Exped. Antarct. Belge.*

(2) A fin de evitar repeticiones enojosas, las especies encontradas en materiales de esta procedencia llevarán en adelante la designación *Pesca núm. 22.*

- A. ocellata* Donk. La misma procedencia. Preparación núm 8.
A. marina H. Van Heurck. Idem id.
A. pusio Cleve, Isla de Cabrera, en *Holothurias* del interior del puerto.
A. sp.? Sobre *Hidrarios* y algas diversas procedentes de un dragado á 28 metros de la bahía de Palma. Pesca núm. 39 del Laboratorio. (Dragado en la bahía de Palma, á 28 metros.)
A. sp.? Sobre algas diversas dragadas en fondo de arena á 47 metros de la misma bahía. Pesca núm. 38 del laboratorio, preparación núm. 4 C.
A. crassa? Greg. Igual procedencia. Isla de Cabrera (Rodríguez Femenías).
A. obtusa? Pesca 38.
Amphiprora alata Kütz. Pesca 22. Preparación núm. 18.
A. (Orthotropis) lepidoptera (Greg.). Cleve. Isla de Cabrera, *Holothurias* del puerto. Preparación núm. 3, B., pesca 39, número 6 C. Isla de Cabrera (Soderlund).

Naviculeæ.

- Navicula aspera* Ehr. Isla de Cabrera, *Holothurias* del puerto. Prep. 1 B, pesca 38, prep. 1 (1).
N. Bombus Ehr. Pesca 22, pesca 39, prep. 4 C.
N. subcincta Ad. Schm. Pesca 22, prep. 20.
N. Smithii Breb. Pesca 22, prep. 17. Isla de Cabrera, en *Holothurias* del puerto, Cabrera (Soderlund) (2). Pesca 38, prep. 1.
N. Eudoxia A. Schm. Pesca 22, prep. 17.
N. directa W. Sm. Pesca 22, prep. 17. Pesca 39, prep. 4 C. Cabrera (Soderlund), prep. 4 C.
N. Lyra Ehr. Pesca 22. Isla de Cabrera. Preps. 1 y 3 B. (Soderlund). Pesca 39, prep. 6 C.

(1) Pesca 38. Material consistente en diversas algas dragadas á 47 metros en la Bahía de Palma.

(2) Rodríguez Femenías: *Algas de las Baleares*. (*Bol. R. Soc. esp. de Hist. nat.*, tomo XVIII.)

- N. advena* A. S., var. *Samsegana* Grun.—Pesca 22, prep. 9.
N. Chersonensis? Grun. En *Holothurias* del puerto de Cabrera.
 Prep. I B.
N. retusa? Breb. Idem de íd. Prep. 3 B.
N. constricta Grum. *Holothurias* del puerto de Cabrera. Prep. I B.
N. didyma Ehr. Idem de íd. Prep. 3 B. Pesca 38, prep. I.
N. Henedyi W. Sm. Bahía de Palma. Pesca 39, prep. 3 C. N.
N. Henedyi Greg., var.? Isla de Cabrera (Soderlund).
N. jejunoides? Pesca 38, prep. I.
N. suborbicularis Greg., var. *coffaeiformis* Ad. Schm. Pesca 38
 preparación I.
N. Liburnica Grun. Pesca 38, prep. I.
N. Beyrichiana Ad. Schm. Bahía de Palma.
Cistula Lorenziana? Grun. Pesca 39, prep. 16.
Pleurosigma decorum W. Sm. Pesca 22, prep. 14. *Holothurias*
 del puerto de Cabrera. Prep. I B.
Pl. affine Grum. Pesca 22, preps. 15 y 17.
Pl. Balticum W. Sm. En el interior de *Ascidias* del puerto de
 Palma. Prep. I. Isla de Cabrera (Soderlund).

B.—Uni-Rafideas (H. V. H.).

Una sola de las valvas provista de verdadero rafe y de tres
 nódulos colocados en línea más ó menos recta.

Achnantheæ.

Achnanthes longipes C. Ag. Pesca 39, prep. 6 C. Sobre *Hidroides*
 del puerto de Palma. Mahón (Rodríguez Femenías).

Cocconeidæ.

- Cocconeis scutellum* Ehr. Pesca 22, preps. 9 y 13. Mahón (Rodríguez
 Femenías).
C. scutellum, var.? Pesca 22, prep. 9.
C. pseudomarginata Greg. Pesca 22, prep. 20. Isla de Cabrera
 (Soderlund.) Mahón (Rodríguez Femenías).

C. sp.? En *Holothurias* del puerto de Cabrera. Prep. 2 B.
Orthonéis splendida (Greg.) Grun. Pesca 22, prep. 13. En *Holothurias* del puerto de Cabrera. Prep. 5 B. Isla de Cabrera (Soderlund). Pesca 39, prep. 4 C.

II.—Celo-Rafídeas.

(Pseudo-Rafídeas H. L. Sm., 1872, part.)

Valva con verdadero rafe, pero poco aparente ú oculto y provista ó desprovista de uno ó varios nódulos más ó menos perfectos. *Diatomáceas* que pueden moverse espontáneamente, como las *Eu-Rafídeas*.

Nitzschieæ.

Nitzschia longissima (Breb.) Ralfs. Pesca 22, prep. 7. Sobre *Hidroideos* del puerto de Palma.
N. sigma Sm. var. *sigmatella* Grun. Pesca 22, prep. 20. Pesca 39, prep. 4.
N. panduriformis Grun! Pesca 22, prep. 20. Pesca 39, preps. 3 y 5. Pesca 38, prep. 1. Cabrera (Soderlund).
N. paradoxa? (Gmel.) Grun. En *Holothurias* del puerto de Cabrera. Prep. 4 B.
N. punctata (Sm.) Grun. En *Holothurias* del puerto de Cabrera. Prep. 4 B. Isla de Cabrera (Soderlund).
N. constricta (Greg.) Grun. Pesca 39, preps. 3 y 5.
N. plana? W. Sm. Pesca 38, prep. 1.
Nitzschia (Tryblionella) punctata (Sm.) Grun. Puerto de Cabrera, en el interior de *Holothurias* (1).

(1) Esta especie la señalan los autores como de agua dulce y salobre; hacemos constar esto por la circunstancia de haberla encontrado en intestinos de *Holothuria* y haber empleado en todas las operaciones de lavado *agua destilada ó filtrada*. Lo único que puede justificar su presencia es la gran proximidad de la costa en que han sido cogidas las *Holothuria*, y por tanto la existencia probable de algún curso de agua.

Pseudo-Nitzschia sicula, castr. var. *bicuneata*? Grun. Pesca 22, preparación 9.

Perrya pulcherrima Grun et Chitton. Pesca 39, prep. 6.

N. sp.? Pesca 29, prep. 4 C.

N. sp.? Pesca 38, prep. 1 D.

2.—Pseudo-Rafídeas.

(H. L. Sm. part.)

Valva desprovista de verdadero rafe, pero generalmente con una línea media blanca, más ó menos ancha y desprovista de verdaderos nódulos. Diatomáceas no dotadas de movilidad espontánea.

Epithemieæ.

Epithemia sp.? Pesca 22, prep. 9.

Epithemia musculus Kütz! En *Holothurias*, del puerto de Cabrera.

E. Turgida (Ehr.) Kütz. Pesca 33, prep. 4 C.

Synedreaæ.

Synedra cristalina (Lyng.) Kütz. Pesca 22, prep. 1. Pesca 39, prep. 4. Puerto de Palma.

S. undulata Greg. Pesca 22, prep. 2. Isla de Cabrera (Soderlund). Pesca 39, preps. 4 y 6. Sobre *Hidroideos* del Puerto de Palma.

S. Baculus Greg. En *Holothurias* del puerto de Cabrera. Preps. 4 y 5 B. Isla de Cabrera (Soderlund).

Thalassionema nitzschioides Grun., Pesca 22, prep. 20.

Raphoneidæ.

Raphoneis amphiceros? Pesca 22, prep. 19 (1).

R. sp.? Pesca 39, prep. 4.

(1) Esta Diatomácea, como acontece á algunas otras, varía mucho de aspecto, según el medio de montaje; de aquí que al consultar diferentes láminas surgen dudas respecto de la especie.

Plagiogrammæ.

Clyphodesmis Williamsonii? (Greg.) Grun. Pesca 39, prep. 6.
Isla de Cabrera (Soderlund).

Licmophoræ.

Licmophora sp.? Pesca 22, prep. 22. (Lám. x, A.)

Tabelariæ.

Grammatophora serpentina (Ralfs.) Ehr. Pesca 22, prep. 16. Pesca 39, prep. 4 C.

G. marina (Lyng.) Kütz. Pesca 22, prep. 17.

G. undulata? Pesca 39, prep. 6 (V.)

Rabdonema Adriaticum Kütz. Pesca 22, prep. 12. Pesca 39, prep. 3. Sobre hidroideos del puerto de Palma. Mahón (Rodríguez Femenías).

Surirellæ.

Podocystis Adriatica? Kütz. Pesca 22 (1). Isla de Cabrera (Soderlund). Menorca (Rodríguez Femenías).

Surirella fastuosa Ehr. En *Holothurias* del puerto de Cabrera. Prep. 2 B. Isla de Cabrera (Soderlund). Pesca 39, prep. 2 C.

S. fastuosa var.? Pesca 22, prep. 5.

S. lata Sm. Pesca 39, prep. 4. Pesca 38, prep. 1 (27). Isla de Cabrera (Soderlund). (Lám. ix, fig. 5.)

S. reniformis Grun. *Plagiodiscus nervatus* Grun. Pesca 39, preparación 4 C. (Lám. ix, fig. 5.)

Campylodiscus decorus Breb. Pesca 22, preps. 5 y 21.

C. Thuretii Breb. Pesca 22, prep. 21. Isla de Cabrera (Soderlund). Pesca 29, prep. 4.

C. Clypeus? Ehr. Pesca 22, prep. 5 y 21.

C. Horologium Williams. Pesca 39, prep. 6.

(1) He observado algunos ejemplares en esta pesca, pero, á causa de su pequeñez y fragilidad, no he podido montar ninguno aislado para hacer una determinación precisa de la especie.

C. Ralfsii W. Sm. Pesca 39, prep. 3 C. Isla de Cabrera (Soderlund).

C. Hodgsonii? Wm. Sm. Pesca 38, prep. I (28).

A.—Rafideas.

Crypto-Rafideas.

(Centricæ Schuett).

Melosiræ.

Melosira sulcata (Ehr.) Kütz. Pesca 38, prep. I (22). Isla de Cabrera (Soderlund).

M. sulcata, var. *genuina*. Pesca 22, prep. 9. En *Holothurias* del puerto de Cabrera. Preps. 4 y 5 B.

Forma coronata. En *Holothurias* del puerto de Cabrera. Preparación 4 B.

Biddulphiæ.

Trinacria sp.?

Biddulphia pulchella Gray. Pesca 22, prep. 6. Isla de Cabrera (Soderlund). Mahón (Rodríguez Femenías).

B. Tuomeyi Bail. Pesca 22, prep. 6. Isla de Cabrera (Soderlund). Mahón (Rodríguez Femenías).

B. Alternans (Bail) H. Van Heurck. *Triceratium alternans* Bail.

B. sculpta (Shadb) H. Van Heurck. *Tric. sculptum* Shadb. Bahía de Palma.

B. (Triceratium) Favus (Ehr.) Van Heurck. Pesca 22, prep. II. Pesca 39, preps. I, 2 y 6. Isla de Cabrera (Soderlund).

B. (Amphitetras) antediluviana Ehr. En *Holothurias* del puerto de Cabrera. Prep. 2 B. Pesca 39, preps. 2, 4 y 5. Mahón (Rodríguez).

Bidd. antedil. var pentagona (Amphipentas) Ehr. Pesca 39, preparación 2 C.

Eupodisceæ.

Auliscus sculptus (W. Sm.) Ralfs. Pesca 39, prep. 3. Isla de Cabrera (Soderlund).

A. sculpt, var. *cæolata*. *A. cæolatus* Bail. Pesca 39, prep. 3.

Heliopelteæ.

Actinoptychus splendens (Shadb.) Ralfs. Pesca 22, prep. 3. Pesca 39, prep. 3.

A. undulatus Ehr. Pesca 38, prep. 1 (25). Isla de Cabrera (Soderlund).

A. sp.? Pesca 39, prep. 6.

A. sp.? En *Holothurias* del puerto de Cabrera, prep. 5 B.

Coscinodisceæ.

Coscinodiscus sp.? Pesca 22, prep. 18.

C. subtilius? var. *Rothii* Grun. Pesca 22, prep. 18.

C. lineatus (Ehr.) Kütz. Pesca 22, prep. 18. Pesca 38, prep. 1 (15). Pesca 39, prep. 3. Isla de Cabrera (Soderlund).

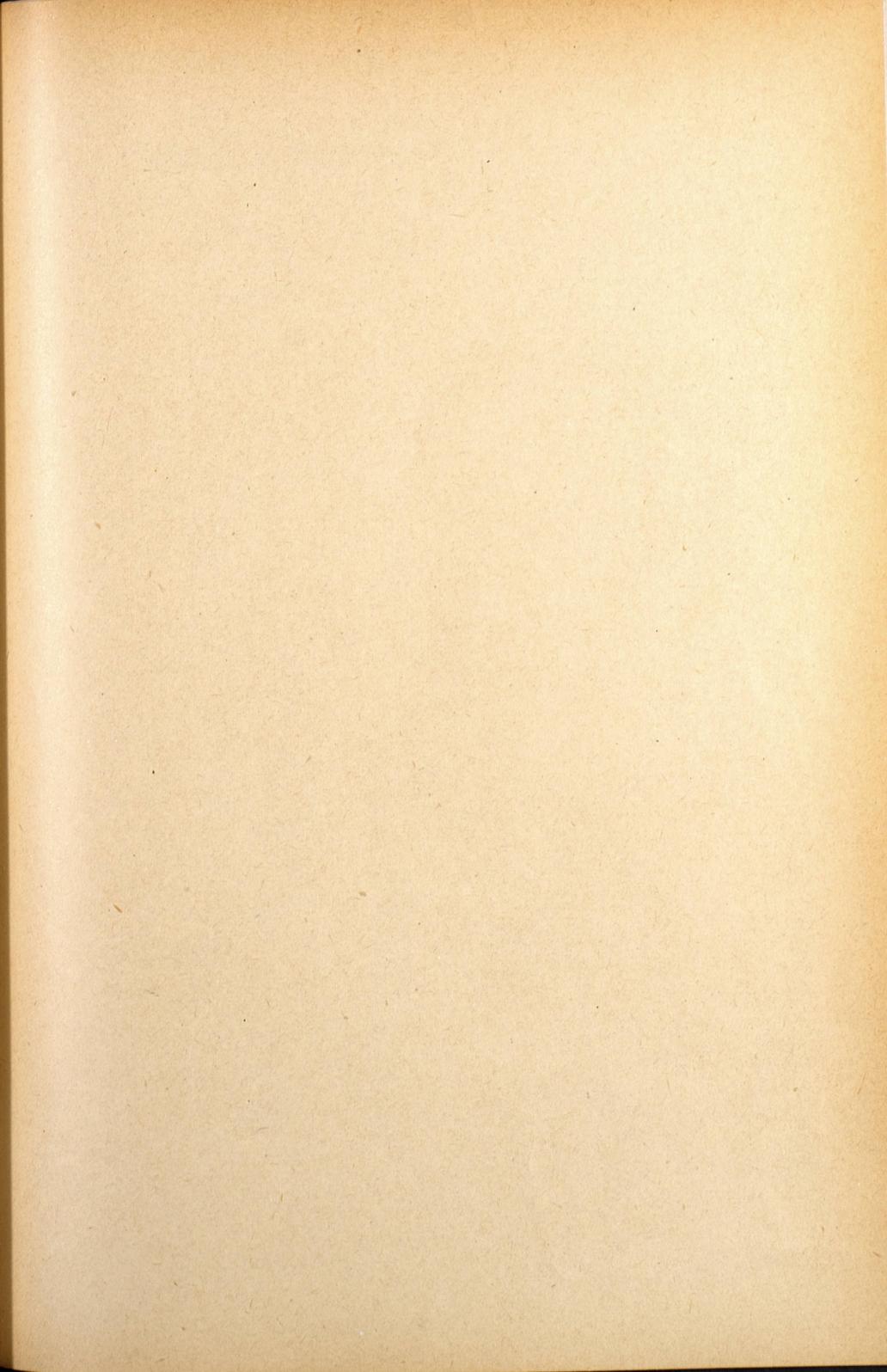
C. nitidus Greg. Pesca 39, prep. 3. Pesca 38, prep. 1 (14). Isla de Cabrera (Soderlund).

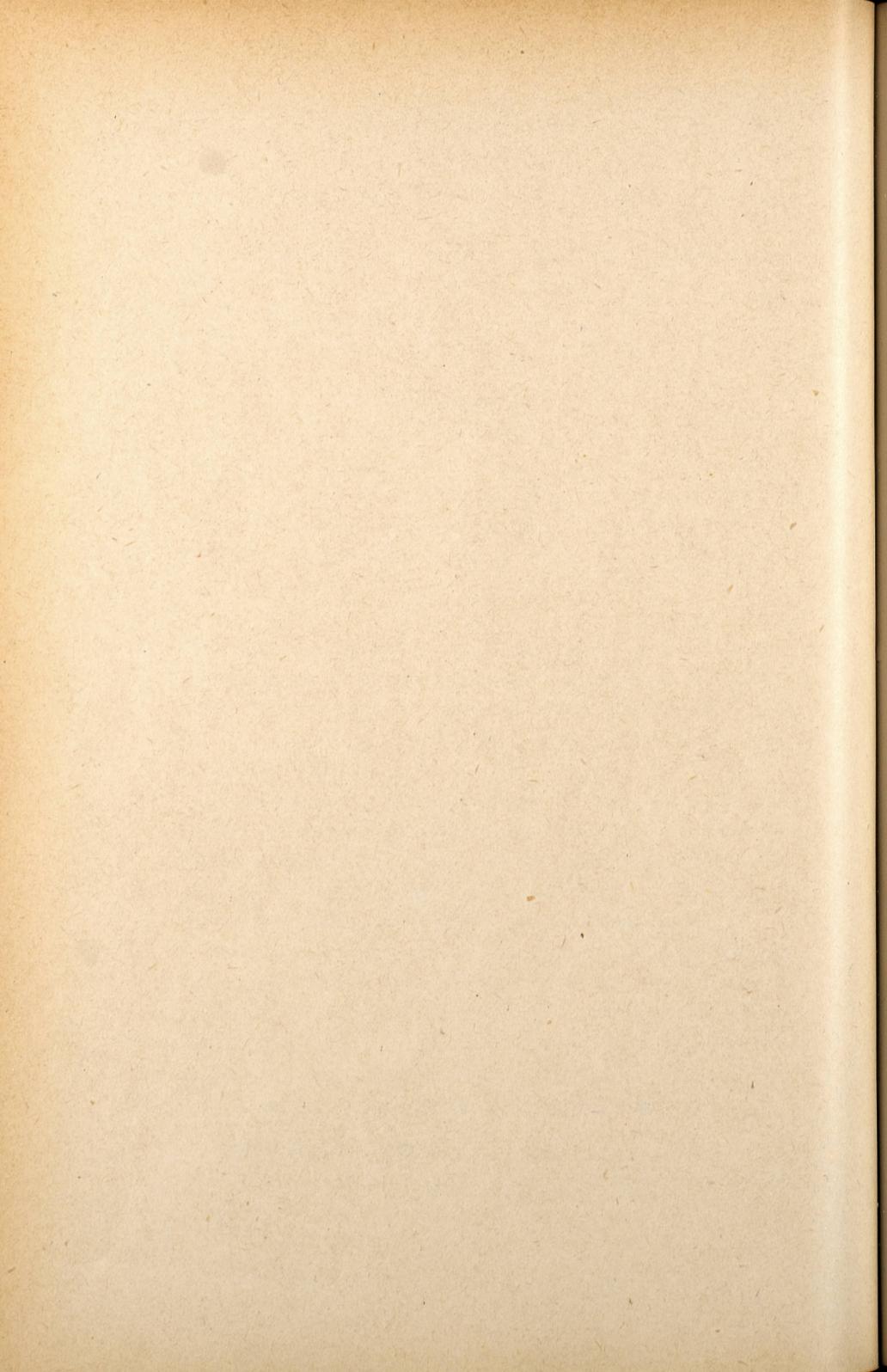
No pretendo con esta investigación personal aportar datos definitivos sobre la composición de la flora diatomológica de Palma de Mallorca, pero sí me importa ofrecer el testimonio del esfuerzo hecho para aumentar la lista de las especies hasta ahora citadas en dichas aguas.

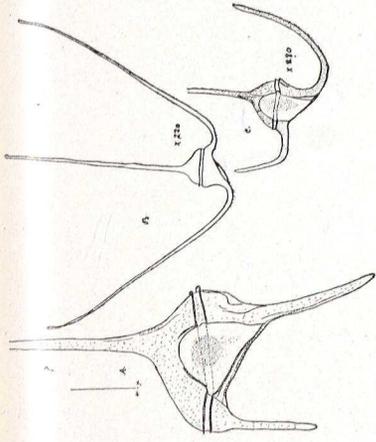
Del mismo modo, todos los trabajos relatados en esta Memoria son una simple indicación de cómo hemos empleado nuestro tiempo durante la permanencia en los Laboratorios con el fin de adquirir la práctica de los distintos trabajos que puedan algún día ser aplicados en provecho de la ciencia española.

Debo también hacer constar que, con harto sentimiento, no nos ha sido posible llevar á término el programa trazado en un principio, y que consistía en visitar algún Laboratorio de Alemania. Habiendo permanecido tres meses en cada uno de los puestos al principio, no dispusimos del tiempo necesario para esta última parte, según hubiera sido nuestro deseo.

Madrid, Septiembre de 1913.

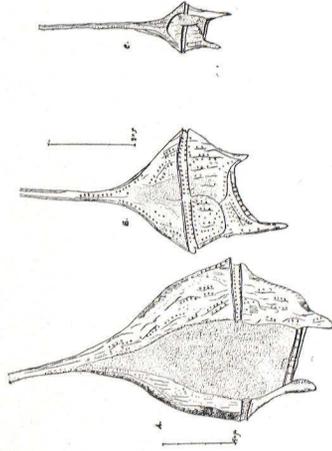






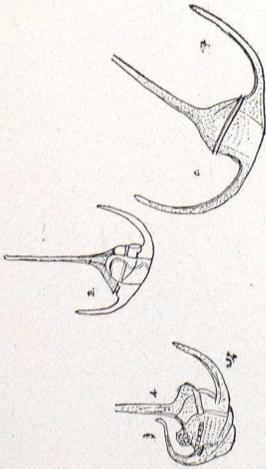
Lecumberri del.

FIG. 3.—A, *Ceratium candelabrum* (Ehr.) Stein.
B, *C. massiliense* Gour.—C, *C. massiliense*, var. *pro-
liferans* Karst.



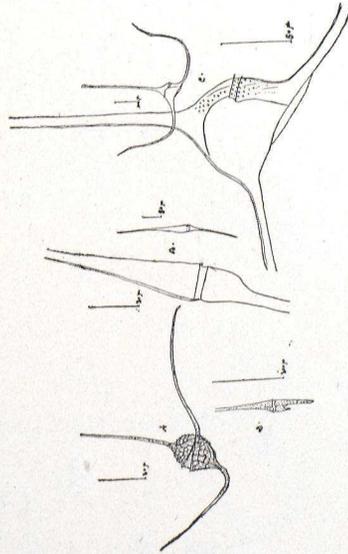
Lecumberri del.

FIG. 4.—A, *Ceratium pentagonum* Gour., var.?
B, *C. pentagonum*, var. *targuianum*.—C, *C. pentago-
num*, f. *robustum* Cl.



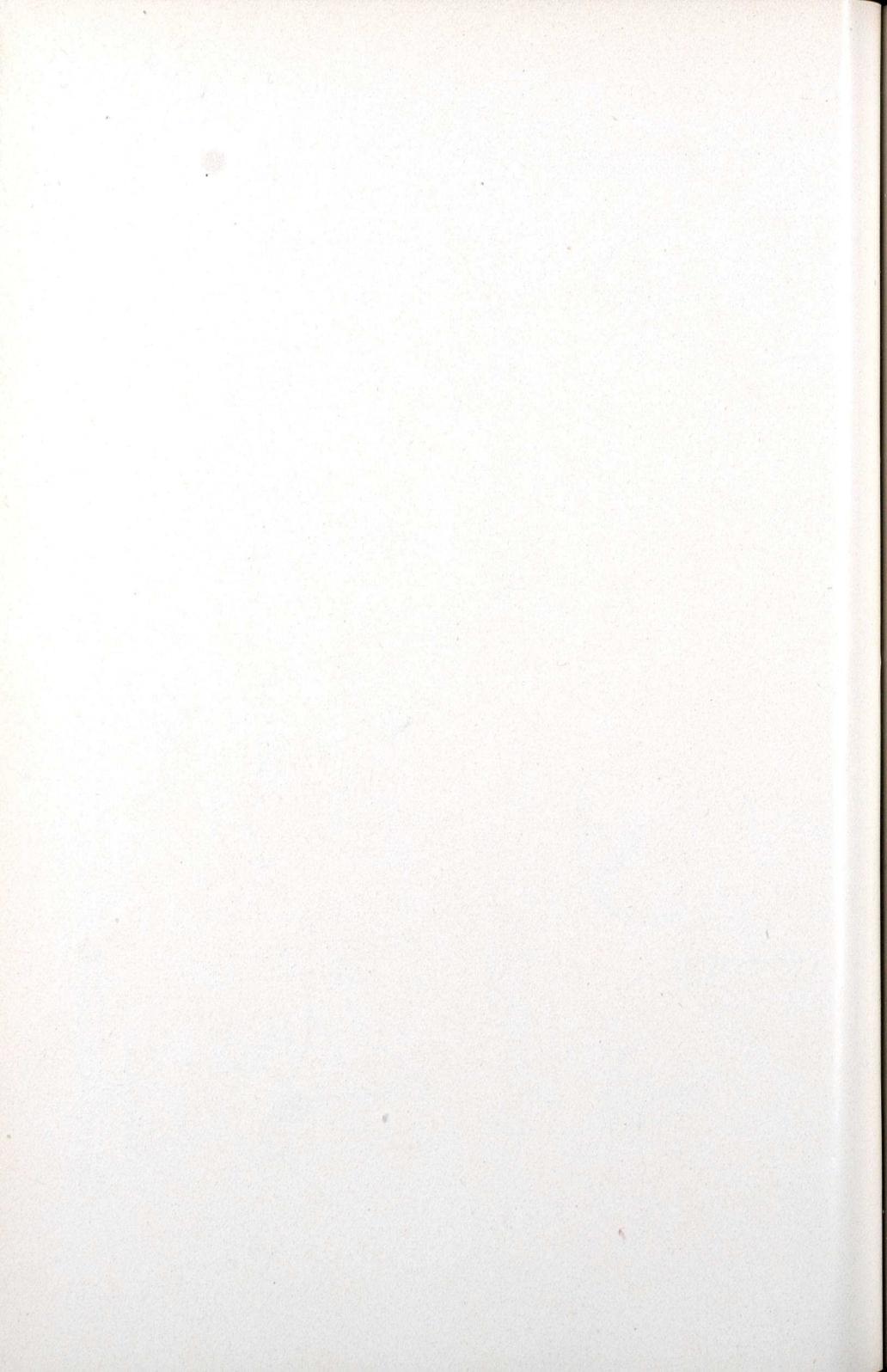
Lecumberri del.

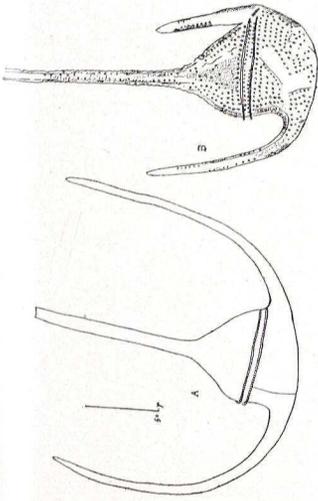
FIG. 1.—A, *Ceratium gibberum* Gour., f. *sinistrum*.
B, *C. tripos* (O. F. Müller) Nilsch.—C, *C. tripos*,
f. *atlanticum* Ostinf.



Lecumberri del.

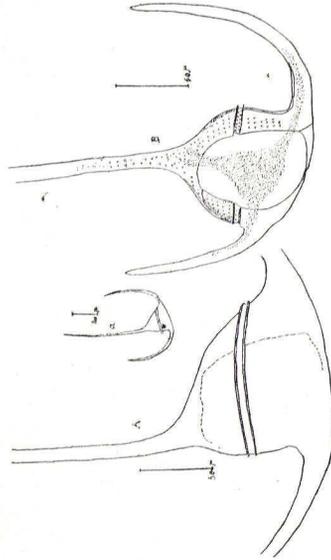
FIG. 2.—A, *Ceratium reticulatum* Ponch.—B, *C. fuscum* (Ehr.) Duj.,
subsp. (Ehr.).—C, *C. trichoceros* (Ehr.) Kof.—D, *C. furca* (Ehr.)
Duj., var.





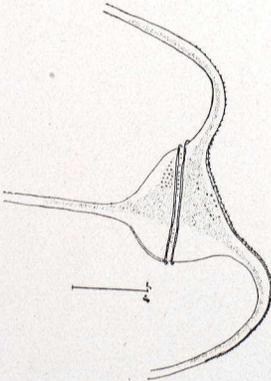
Lecumberri del.

FIG. 3.—A, *Ceratium gracile* (Gourr.), var. *symmetricum*
(Pavill.),—B, *C. gracile*? (Gourr.).



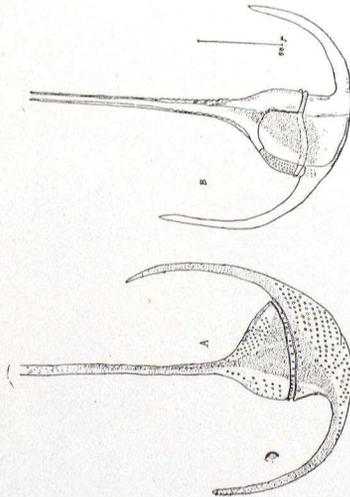
Lecumberri del.

FIG. 4.—A, *Ceratium longinum*? Karst.—B, *C. pulchellum*
Schröd.



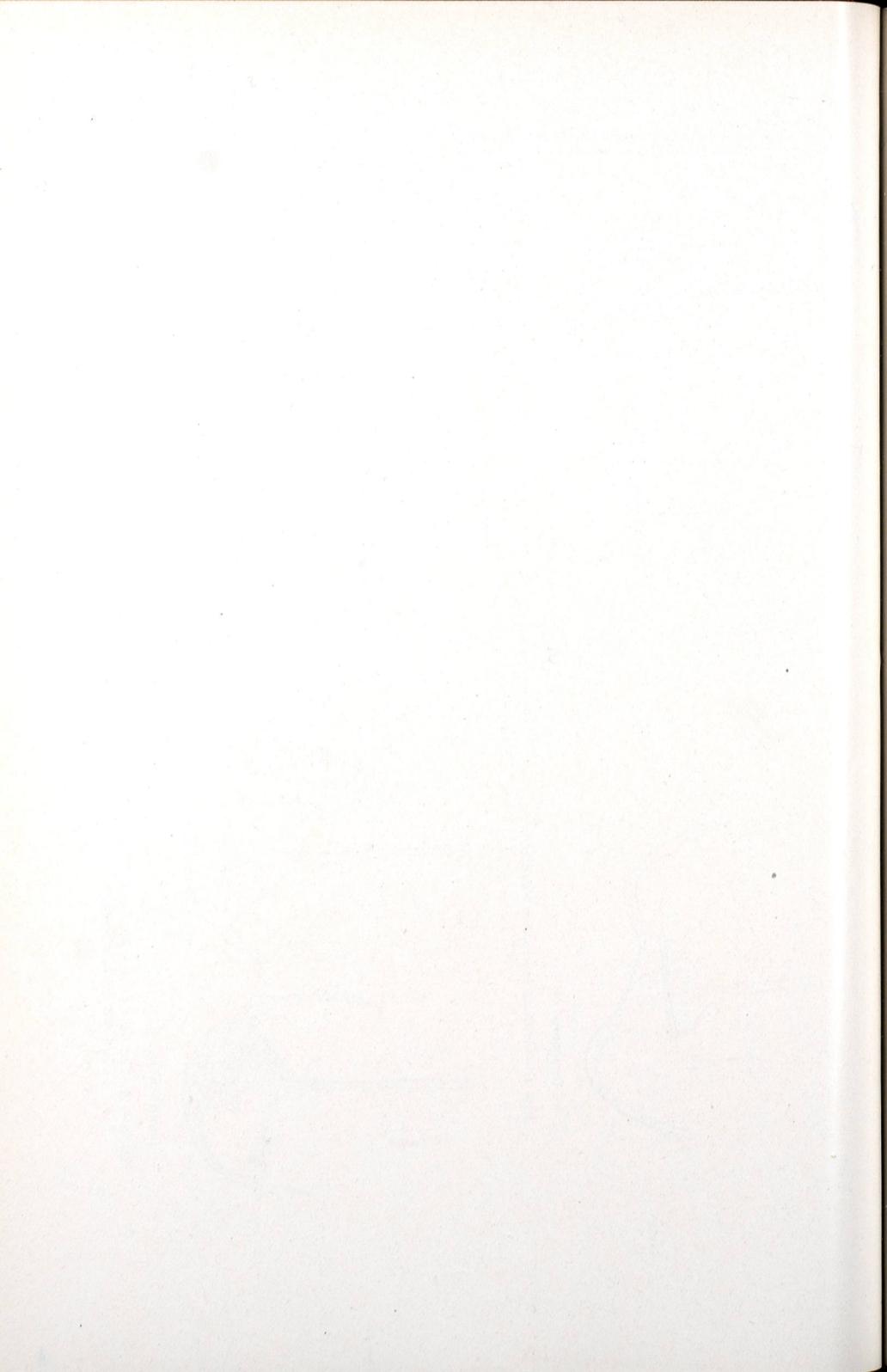
Lecumberri del.

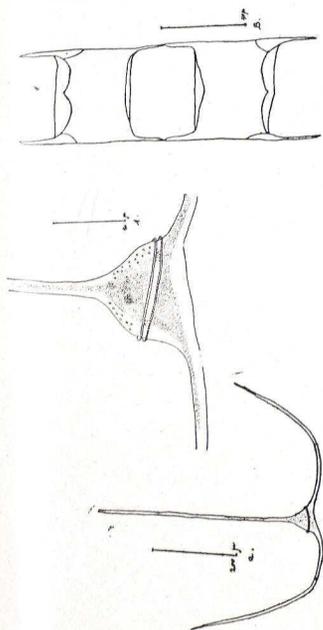
FIG. 1.—*Ceratium macroceros* Pavillard.



Lecumberri del.

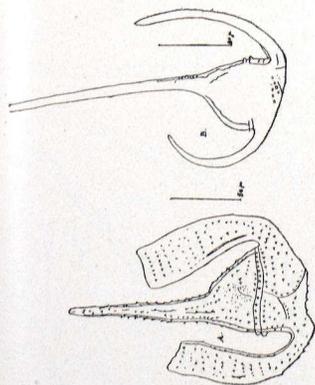
FIG. 2.—A, *Ceratium arcuatum* (Gourr.) Pavillard.
B, *C. declinatum* Karst.





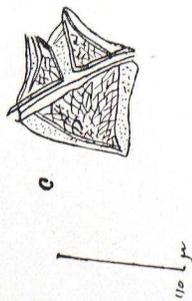
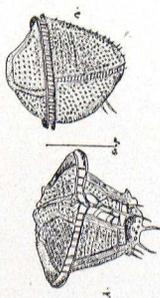
Lecumberri del.

FIG. 3.—A, *Ceratium lunula*? Schimp., forma *megaceros*.
B, *Biddulphia Sinensis*?



Lecumberri del.

FIG. 1.—A, *Ceratium platycornae* Daday, var.?
B, *C. arcticum* Cl.

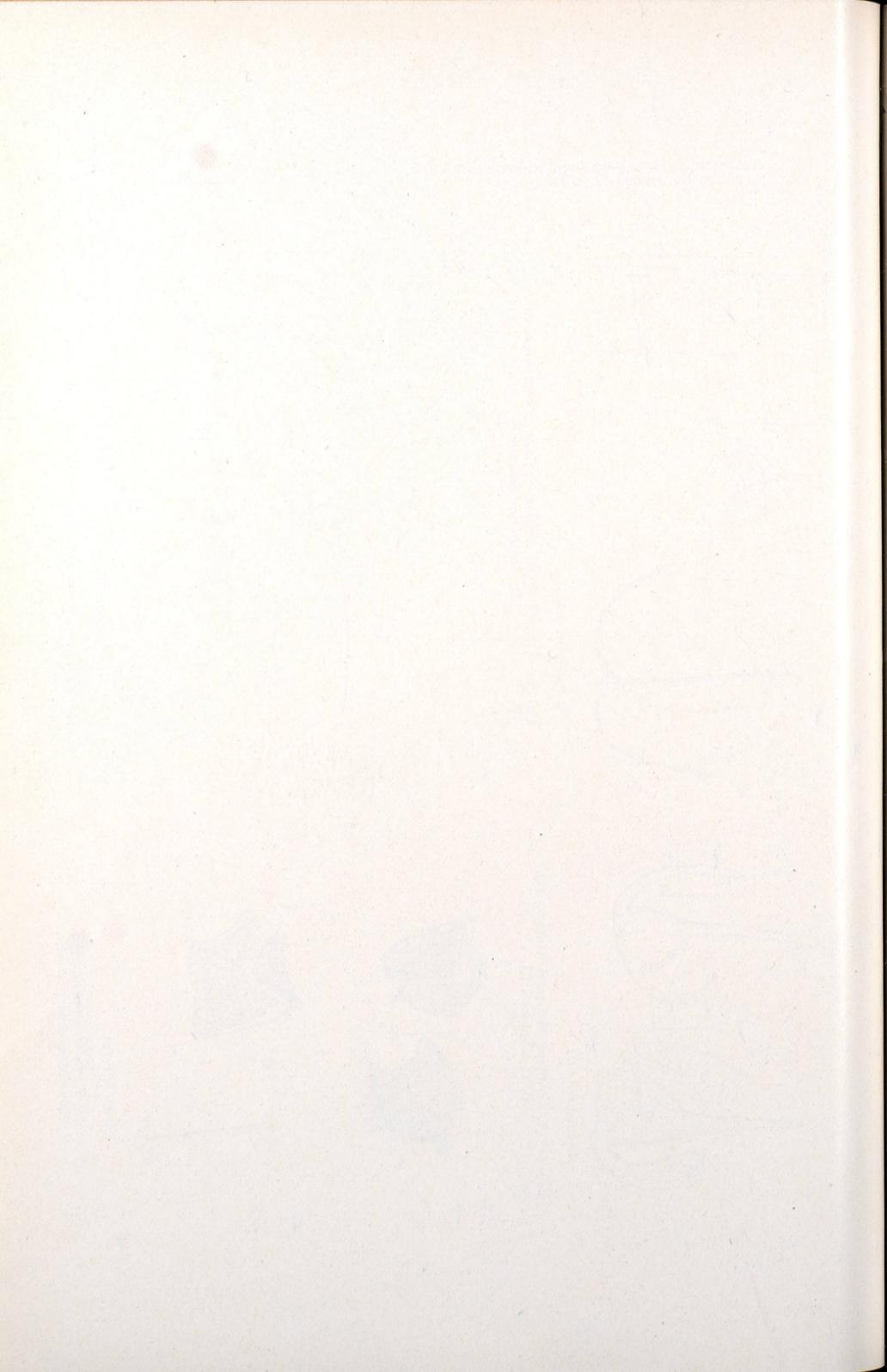


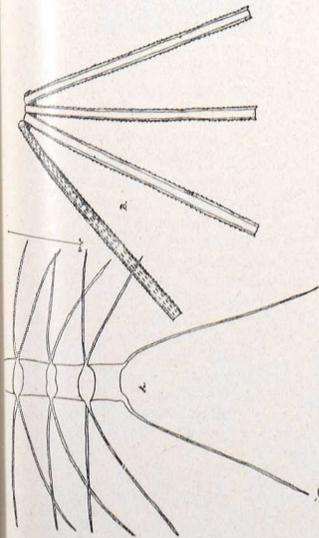
Lecumberri del.

FIG. 2.—A, *Coniothoma* sp.?, B,?
C, *Peritinium divergens* Ehr.

Lecumberri del.

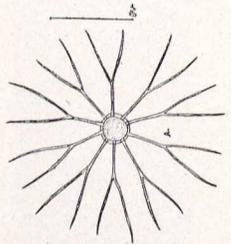
FIG. 4.—*Chaetoceros ditipiensis*: individuo aislado.





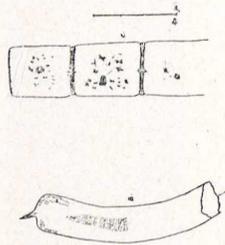
Lecumberri del.

FIG. 1.—A, *Chaetoceros decipiens*: extremidad de una cadena. B, *Thalassiothrix frauenfeldii* Grun.



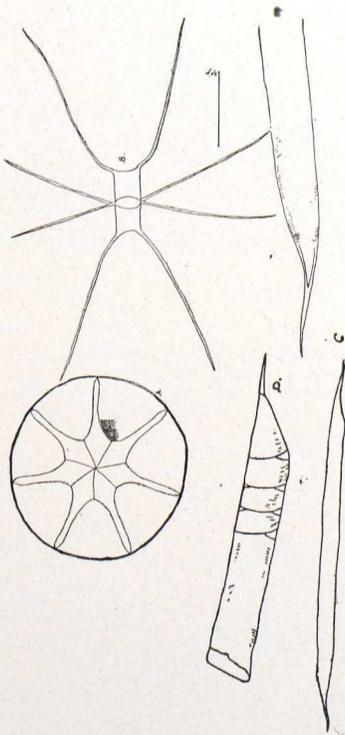
Lecumberri del.

FIG. 3.—A, *Eacteriastrum varians* Lander.—B, *Rhizosolenia Stortterfothii*.—C, *Detonula Schröteri*?



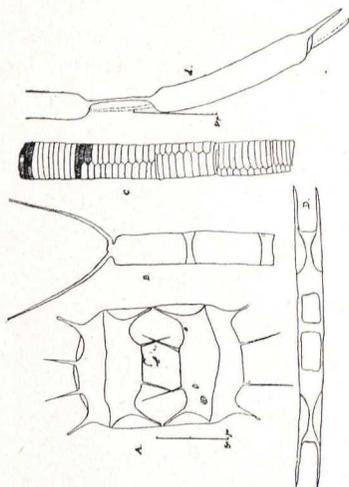
Lecumberri del.

FIG. 4.—A, *Bidulphia Baileyi* W. Sm.—B, *Perogalloa* sp.? C, *Dictyosolen tenuis*.—D, *Hemiaulus Hauckii*.



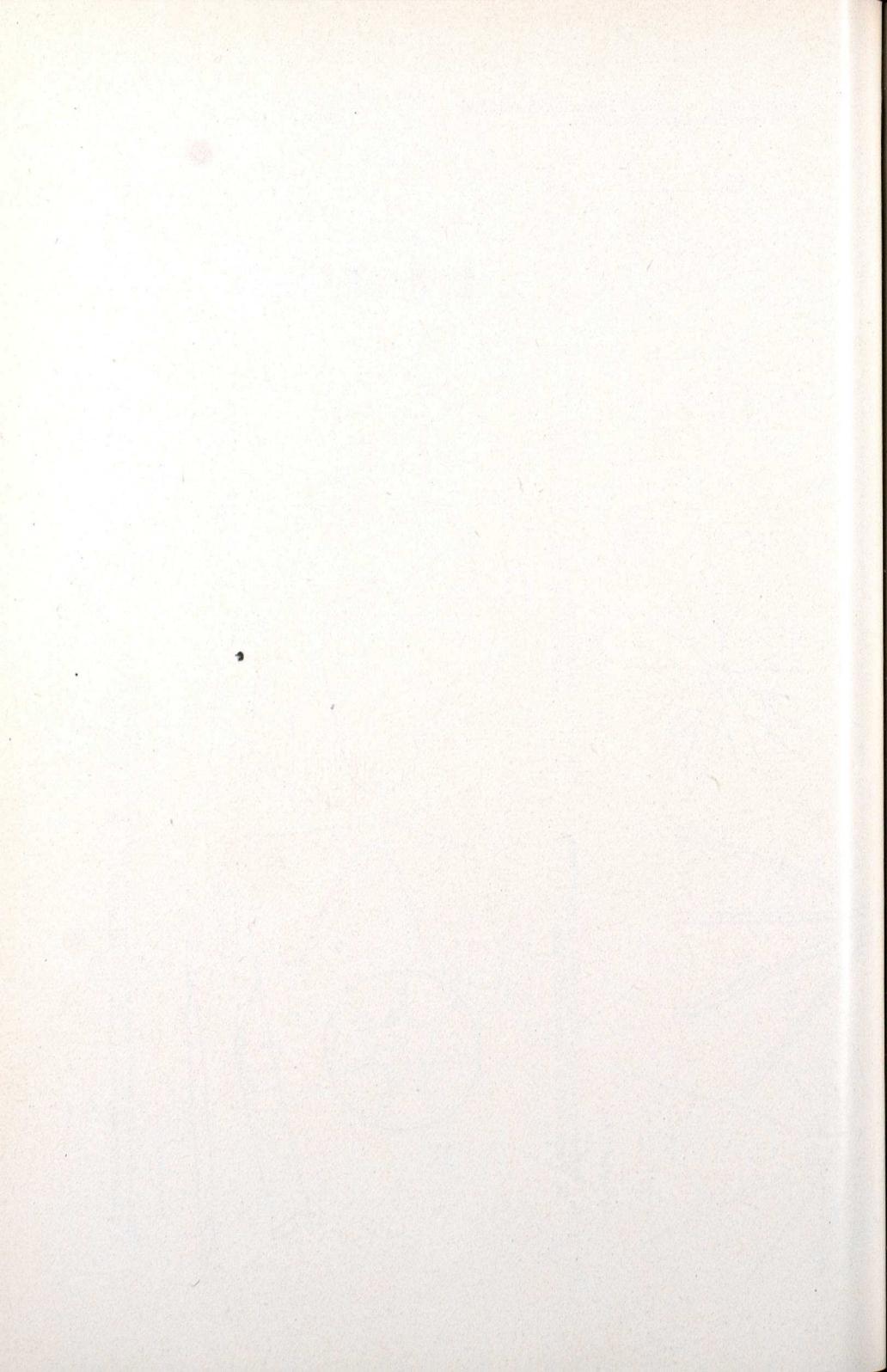
Lecumberri del.

FIG. 2.—A, *Asterolampra Mylandica* Ehr., f. *mediterranea heparadiata*. B, *Chaetoceros decipiens*.—C, *Rhizosolenia stitiformis*.—D, *Rh. inbricata* Bright.



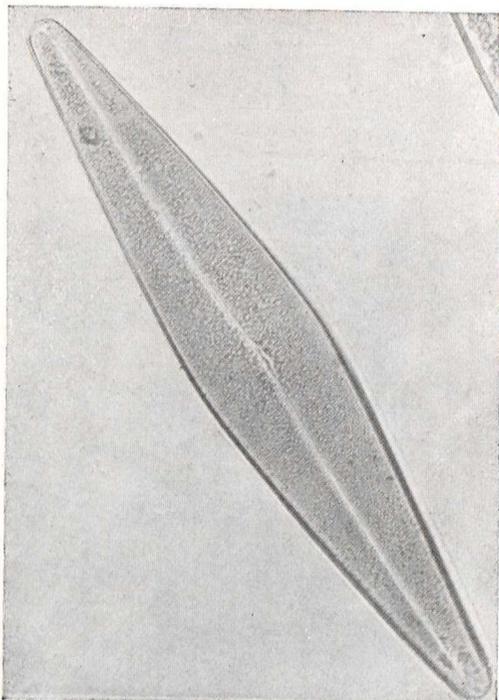
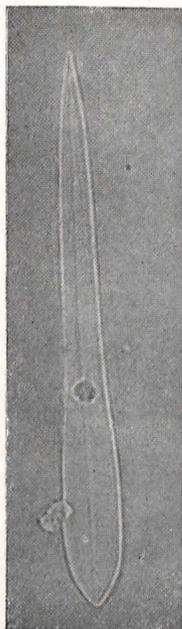
Lecumberri del.

FIG. 5.—*Surirella reniformis* Grun, *fastuosa* Ehr.



B

A



Condiciones ópticas, A:

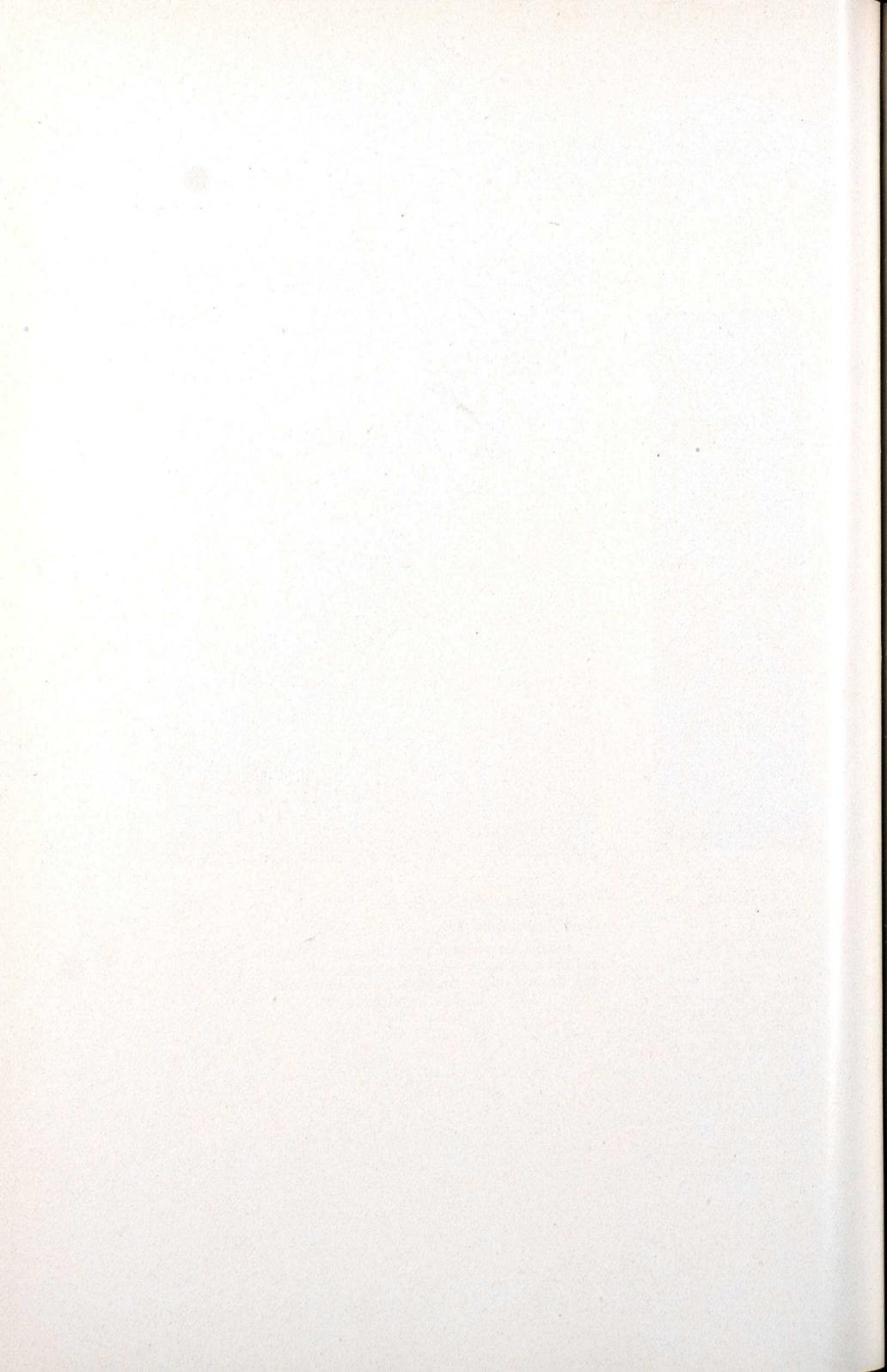
Liemophora sp.?
(Bahía de Palma.)

Luz de arco; gran banco de Zeiss.—Condensador acromático de Abbé.—Objetivo Zeiss, 0,95 ap. n., 4 mm. dist. foc.—Ocular compensador, núm. 4.—Longitud de la cámara, 620 mm.—Aumento, 620.—Placa cromo «Isolar»; exposición, 80''.

Condiciones ópticas, B:

Scolioptleura tumida?

La misma luz y condensador que A.—Objetivo Zeiss acromático, 0,95 ap. n.—Ocular compensador, núm. 4.—Longitud de la cámara, 620 mm.—Aumento, 620.—Placa «Isolar»; exposición, 80''.





Condiciones ópticas, C:

Scolioptera tumida? (Bahía de Palma). Detalle: Misma luz, condensador, placa y exposición que las A y B.—Objetivo apocromático Zeiss, 1,30 ap. n., 2 mm. dist. foc.—Ocular compensador, núm. 4.—Longitud de la cámara, 620 mm.—Aumento, 1240.

