(Ciencia, Méx.) Fecha de publicación: 30 de abril de 1968

CIENCIA

Revista hispano-americana de Ciencias puras y aplicadas

PUBLICACION DEL

PATRONATO DE CIENCIA

SUMARIO

	Págs.
Las técnicas con microelectrodos en Fisiología, por HUGO ARÉCHIGA URTUSUASTEGUI ...	45
Conservación por congelamiento del ácido desoxirribonucleico transformante de *Haemophilus influenzae*, por EMILIANO CABRERA-JUÁREZ y EUGENIA J. OLGUÍN-PALACIOS	65
Síntesis y espectroscopía de nuevos derivados del asaraldehido, Parte III, por F. SÁNCHEZ-VIESCA y R. M. MAINERO	69
Miscelánea.—Homenaje al Profesor Modesto Bargalló	77
Libros nuevos	84
Libros recibidos	85

Volumen XXVI MEXICO, D. F. 1968 Número 2

CIENCIA

REVISTA HISPANO-AMERICANA DE CIENCIAS PURAS Y APLICADAS

DIRECTOR FUNDADOR
IGNACIO BOLIVAR Y URRUTIA †

DIRECTOR
C. BOLIVAR Y PIELTAIN

REDACCION:

FRANCISCO GIRAL. RAFAEL ILLESCAS FRISBIE JOSE PUCHE ALVAREZ MANUEL SANDOVAL VALLARTA
GUILLERMO MASSIEU JOSE IGNACIO BOLIVAR ALFREDO SANCHEZ - MARROQUIN ANTONIO GARCIA ROJAS

CONSEJO DE REDACCION

ALVAREZ FUERTES, DR. GABRIEL, México.
ASENJO, DR. CONRADO F., San Juan, Puerto Rico.
BAMBAREN, DR. CARLOS A., Lima, Perú.
BARGALLÓ, PROF. MODESTO. México.
BELTRAN, DR. ENRIQUE. México.
BIRABEM, DR. MAX. Buenos Aires, Argentina.
BONET, DR. FEDERICO. México.
BOSCH GIMPERA, DR. PEDRO. México.
BRAVO-AHUJA, ING. VÍCTOR. México.
BUÑO, DR. WASHINGTON. Montevideo, Uruguay.
BUTTY, ING. ENRIQUE. Buenos Aires, Argentina.
CABALLERO, DR. EDUARDO. Monterrey, N. L., México.
CABRERA, PROF. ANGEL LULIO. La Plata, Argentina.
CÁRDENAS, DR. MARTÍN. Cochabamba, Bolivia.
CARRANZA, DR. JORGE, Veracruz, México.
CASTAÑEDA-AGULLÓ, DR. MANUEL. México.
COLLAZO, DR. JUAN A. A. Montevideo, Uruguay.
COSTERO, DR. ISAAC. México.
CORI, PROF. OSWALDO. Santiago de Chile, Chile.
CORONADO-G., Biól. LUZ. México.
CRAVIOTO, Q. B. P. RENÉ O. México.
CRUZ-COKE, DR. EDUARDO. Santiago de Chile, Chile.
CUATRECASAS, PROF. José. Wáshington, D. C.
CHAGAS, DR. CARLOS. Río de Janeiro, Brasil.
DEULOFEU, DR. VENANCIO. Buenos Aires, Argentina.
DOMINGO, DR. PEDRO. La Habana, Cuba.
ERDOS, ING. JOSÉ. México.
ESCUDERO, DR. PEDRO. Buenos Aires, Argentina.
ESTABLE, DR. CLEMENTE. Montevideo, Uruguay.
ESTÉVEZ, DR. CARLOS. Guatemala, Guatemala.
FLORKIN, PROF. MARCEL. Lieja, Bélgica.
FOLCH y PI, DR. ALBERTO, México, D. F.
FONSECA, DR. FLAVIO DA. São Paulo, Brasil.
GALLO, ING. JOAQUÍN. México.
GONÇALVES DE LIMA, DR. OSWALDO. Recife, Brasil.
GRAEF, DR. CARLOS. México.
GRANDE, DR. FRANCISCO, Minneapolis, Estados Unidos.
GUZMÁN, ING. EDUARDO J. México.
GUZMÁN BARRÓN, DR. A. Lima. Perú.
HAHN, DR. FEDERICO L. México.
HARO, DR. GUILLERMO, Tonantzintla, México.
HEIM, PROF. ROGER. París.
HENDRICHS, ING. JORGE. México.
HOFFSTETTER, DR. ROBERT. París.
HORMAECHE, DR. ESTENIO. Montevideo, Uruguay.
HOUSSAY, PROF. B. A. Buenos Aires, Argentina.
HUBBS, PROF. C. La Joya, California.
IZQUIERDO, DR. José JOAQUÍN. México.
JIMÉNEZ-ASÚA, PROF. LUIS. Buenos Aires.
KOPPISCH, DR. ENRIQUE. Puerto Rico.
KUHN, PROF. DR. RICHARD, Heidelberg, Alemania.
LASNIER, DR. EUGENIO P. Montevideo, Uruguay.
LENT, DR. HERMAN. Río de Janeiro, Brasil.
LIPSCHUTZ, DR. ALEJANDRO. Santiago de Chile, Chile.
LUCO, DR. J. V. Santiago de Chile, Chile.
MACHADO, DR. ANTONIO DE B. Dundo, Angola.
MADRAZO G., QUÍM. MANUEL. México.
MALDONADO-KOERDELL, DR. MANUEL. México.
MARTÍNEZ, PROF. ANTONIO. Buenos Aires, Argentina.
MARTÍNEZ BÁEZ, DR. MANUEL. México.
MARTÍNEZ DURÁN, DR. CARLOS. Guatemala.
MARTÍNEZ ESCALERA, PROF. FERNANDO, Uruguay.
MARTINS, PROF. THALES. São Paulo, Brasil.
MEDINA PERALTA, ING. MANUEL, México.
MONGE, DR. CARLOS. Lima, Perú.
MURILLO, PROF. LUIS MARÍA. Bogotá, Colombia.
NÈGRE, JACQUES, Versailles, Francia.
NIETO, DR. DIONISIO. México.
NOVELLI, PROF. ARMANDO. La Plata, Argentina.
OCHOA, DR. SEVERO. Nueva York, Estados Unidos.
OGUETA, ING. EZEQUIEL, Buenos Aires, Argentina.
ORIAS, PROF. OSCAR. Córdova, Argentina.
ORIOL ANGUERA, DR. ANTONIO. México.
OSORIO TAFALL, DR. B. F. Nicosia, Chipre.
PARODI, ING. LORENZO R. Buenos Aires, Argentina.
PATIÑO CAMARGO, DR. LUIS. Bogotá, Colombia.
PELÁEZ, DR. DIONISIO. México.
PEREIRA, PROF. FRANCISCO S. São Paulo, Brasil.
PÉREZ VITORIA, DR. AUGUSTO. París.
PI SUÑER, DR. SANTIAGO. Panamá.
PUENTE DUANY, DR. NICOLÁS. La Habana, Cuba.
ROSENBLUETH, DR. ARTURO. México.
ROTGER, P., BERNARDO, México, D. F.
RUIZ CASTAÑEDA, DR. MAXIMILIANO. México.
RZEDOWSKI, DR. JORGE, México.
SANDOVAL, DR. ARMANDO M. México.
SOMOLINOS D'ARDOIS, DR. GERMÁN. México.
STRANEO, PROF. S. L. Milán, Italia.
TRIAS, DR. ANTONIO. Bogotá, Colombia.
TUXEN, DR. SÖREN L. Copenhague, Dinamarca.
VANDEL, DR. ALBERT, Moulis, Pyr., Francia.
VARELA, DR. GERARDO. México.
VIANA, DR. Buenos Aires, Argentina.
VILLELA, DR. G. Río de Janeiro, Brasil.
ZAPPI, PROF. E. V. Buenos Aires.
ZELEDON, PROF. RODRIGO. Costa Rica.

PATRONATO DE CIENCIA

PRESIDENTE
LIC. CARLOS PRIETO

VICEPRESIDENTE
DR. IGNACIO CHAVEZ

VOCALES

DR. IGNACIO GONZALEZ GUZMAN ING. GUSTAVO P. SERRANO ING. RICARDO MONGES LOPEZ
ING. LEON SALINAS SR. EMILIO SUBERBIE SR. SANTIAGO GALAS DR. SALVADOR ZUBIRAN

DESDE 1941 AL SERVICIO DE LA CULTURA Y DE LA CIENCIA

LIBRERIA INTERNACIONAL, S. A.

Av. Sonora 206 - México, 11, D. F.

Tel.: 33-09-05

El mejor servicio de libros y revistas para el investigador y para el educador

Extenso surtido en:

Química
Bioquímica
Farmacia
Medicina
Arte
Zoología
Botánica
Biología general
Literatura en alemán
Literatura en español

Distribuidora exclusiva del "Manual Moderno, S. A." con los siguientes títulos:

Siver, MANUAL DE PEDIATRIA con 654 páginas e ilustrado	Dls.	$ 6.40
Goldman, PRINCIPIOS DE ELECTROCARDIOGRAFIA CLINICA, con 405 páginas e ilustrado, 2ª edición	Dls.	$ 7.00
Jawetz, MANUAL DE MICROBIOLOGIA MEDICA, con 390 páginas e ilustrado, 2ª edición, 1964	Dls.	$ 7.00
Jawetz, TABLA DE PROTOZOARIOS (43 x 52 cm)	Dls.	$ 1.00
Jawetz, TABLA DE HELMINTOS (34 x 52 cm)	Dls.	$ 1.00
Smith, UROLOGIA GENERAL, con 338 páginas e ilustrado	Dls.	$ 6.00
Krupp, PRONTUARIO MEDICO, 1963	Dls.	$ 6.40
Brainerd, DIAGNOSTICO Y TRATAMIENTO, 1965	Dls.	$ 15.40
Harper, MANUAL DE QUIMICA FISIOLOGICA, con 450 páginas e ilustrado, probablemente	Dls.	$ 7.00
Ganong, MANUAL DE FISIOLOGIA MEDICA, probablemente	Dls.	$ 7.00
MANUAL DEL ENFERMO DIABETICO ..... (en México)	m/n	$ 32.00
(en el extranjero)	Dls.	$ 3.20

VITAERGON

TONICO BIOLOGICO COMPLETO

ALTO CONTENIDO EN VITAMINAS ESENCIALES

COMPLEMENTO ALIMENTICIO

Reg. Núm. 22762 S. S. A.

Presentación: Frascos con un contenido de 250 c. c.

HECHO EN MEXICO

PRODUCTO DE GARANTIA PREPARADO POR

Prop. Núm. 19683 S. S. A.

INDUSTRIAS QUIMICO-FARMACEUTICAS AMERICANAS, S. A.

AV. B. FRANKLIN 38-42 TACUBAYA, D. F.

ACADEMIA HISPANO-MEXICANA

SECUNDARIA PREPARATORIA MIXTA

INCORPORADA A LA U. N. A. M.

Homero 1425 **Tel. 20-50-28** **México 5, D. F.**

CIENCIA

REVISTA HISPANO-AMERICANA DE CIENCIAS PURAS Y APLICADAS

DIRECTOR FUNDADOR:
IGNACIO BOLIVAR Y URRUTIA †

DIRECTOR:
C. BOLIVAR Y PIELTAIN

REDACCION:
FRANCISCO GIRAL. RAFAEL ILLESCAS FRISBIE JOSE PUCHE ALVAREZ
GUILLERMO MASSIEU H. ALFREDO SANCHEZ - MARROQUIN ANTONIO GARCIA ROJAS MANUEL SANDOVAL VALLARTA

VOL. XXVI
NUMERO 2

PUBLICACION BIMESTRAL DEL
PATRONATO DE CIENCIA

MEXICO, D. F.
PUBLICADO: 30 DE ABRIL DE 1968

REGISTRADA COMO ARTICULO DE 2A. CLASE EN LA ADMINISTRACION DE CORREOS DE MEXICO, D. F. CON FECHA 24 DE OCTUBRE, 1946

La Ciencia moderna

LAS TECNICAS CON MICROELECTRODOS EN FISIOLOGIA[1]

por

HUGO ARÉCHIGA URTUSUÁSTEGUI,

Departamento de Fisiología. Facultad de Medicina;
U.N.A.M.

INTRODUCCIÓN

Una de las operaciones más importantes en las ciencias naturales, es el análisis de las propiedades de un sistema a partir del conocimiento de los elementos que lo integran. En el dominio de la Biología, desde el advenimiento de la teoría celular se acepta que las funciones de los metazoarios son resultado de la actividad conjunta de las células que los constituyen, desconociéndose empero, las peculiaridades fisiológicas de los distintos tipos de células y las leyes que rigen ese conjunto de actividades unitarias, dándole la fisonomía propia al funcionalismo del metazoario.

No hace muchos años que el fisiólogo maneja el concepto de "unidades funcionales". Fue a principios de este siglo, cuando Lucas (1909), según expresión de Barcroft (1934), "sacudió al mundo fisiológico" al demostrar que la contracción del músculo *cutaneus dorsi* de la rana, está graduada en tantas etapas como fibras motoras hay en su nervio. Con ello comprobó que la ley del todo o nada, descrita por Bowditch (1871) en el corazón, era aplicable al músculo esquelético y abrió el camino al concepto de la unidad motora. Como consecuencia de este descubrimiento, se afinaron las técnicas para activar fibras musculares, Pratt (1917) y Pratt y Eisenberg (1919), lograron estimular aisladamente fibras de sartorio de rana, mediante finísimas pipetas, de 1 a 3 μ de diámetro en la punta y llenas con Ringer-agar. Electrodos semejantes fueron empleados por Taylor (1925) para inducir cataforesis de partículas ultramicroscópicas en el citoplasma del mixomiceto *Stemonilis elegans*. Este mismo autor describió otra técnica para construir electrodos impolarizables. Por el mismo tiempo Gelfan (1925) y Peterfi (1925) crearon métodos análogos para elaborar microelectrodos.

En esta misma época, la teoría de la neurona propuesta por Cajal (80) empezaba a servir de base para explicar el funcionamiento del sistema nervioso. Por otra parte Adrian y col. (1928) iniciaban, en esta tercera década del siglo, el registro de la actividad eléctrica de los tejidos excitables.

Aun cuando ya existían los elementos conceptuales necesarios para hacer de la técnica de registro con microelectrodos una abundante fuente de conocimientos, la falta de aparatos de amplificación adecuados a la gran resistencia eléctrica de los microelectrodos retrasó su empleo más de una década, y dio margen entretanto a la creación de otras técnicas de registro

[1] Trabajo presentado en el curso para la Formación de profesores de Fisiología, U. N. A. M.

de la actividad eléctrica unitaria, que serán revisadas muy someramente, sólo con el propósito de comparar su bondad con la del registro mediante microelectrodos:

1) *Aislamiento de fibras aferentes por destrucción de receptores.*—Esta técnica es original de Adrian y Zotterman (1926), quienes la emplearon para aislar la actividad unitaria de tensoreceptores (husos) en el músculo esternocutáneo de rana. Para ello, extirparon progresivamente las fibras musculares que contienen los husos, registrando la actividad del nervio aferente, hasta que en éste sólo se apreció la descarga eléctrica de un receptor. El músculo en cuestión ofrece la ventaja de contener pocos husos, pero aún así, la técnica es sumamente laboriosa y no ha tenido gran difusión.

2) *Aislamiento de una sola fibra en un tronco nervioso* Figura 1a.—Empleada por Adrian

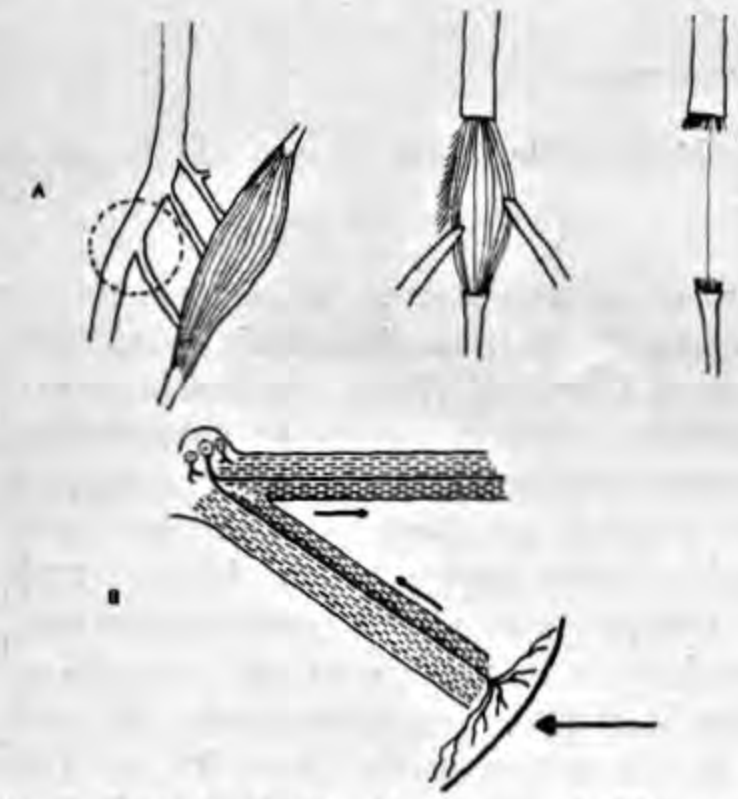


Fig. 1a.—Técnica de disección de una sola fibra nerviosa. (tomada de Tasaki, I.: *Amer. J. Physiol.* 125: 367-379, 1939); b.—Técnica de aislamiento de la actividad unitaria en fibra recurrente de la piel de rana (tomada de Adrian, E. D., Catell, M. y Hoagland, H.: *J. Physiol,* 72: 377-391, 1931.

y Bronk (1928, 1929) en fibras motoras del frénico y después por otros autores en fibras sensitivas raquídeas. En el caso de las fibras sensitivas, presenta el inconveniente de que no refleja la actividad de un solo receptor, sino de todos los inervados por la fibra. Sin embargo, esta técnica ha tenido una repercusión mucho mayor que la anterior, tanto en el estudio de nervios motores como en el de troncos sensitivos.

3) *Reconocimiento de la actividad unitaria por sus características eléctricas en preparación de pocas unidades.*—Este método fue empleado por Adrian y Umrath (1929) en el análisis de la actividad de los corpúsculos de Pacini en la rodilla del gato. Se identifica la actividad de cada corpsculo por la amplitud y frecuencia de los potenciales registrados, siendo, evidentemente más fiel la amplitud, dada la ley del todo o nada. También este método ha tenido gran resonancia con el uso de microelectrodos, su utilidad se ha extendido aun a preparaciones con gran número de unidades.

4) *Preparaciones especiales.*—En estructuras biológicas que por el tamaño o la disposición de sus unidades, permitan separar su actividad:

a) Registro en fibras recurrentes, que formando parte de un tronco sensitivo, al llegar al ganglio pasan sin hacer sinapsis al nervio motor (Fig. 1b), aprovechando que en un tronco no suele haber más que una de estas fibras, su naturaleza eferente la distingue del resto de los elementos del tronco sensitivo. La técnica fue usada originalmente por Adrian, Catell y Hoagland en el estudio de los receptores cutáneos de la rana (1931). La rareza de esta preparación, constituye su mayor limitación.

b) Registro en fibras gigantes.—Como el axon del calamar, preparación sugerida por Young (1936) y que por su gran diámetro (hasta 1 mm) permite la introducción de electrodos, lo que ha sido de gran utilidad en el estudio de los procesos excitatorios.

Todas las preparaciones mencionadas siguen empleándose en la actualidad, pero como puede apreciarse, sólo permiten analizar la actividad en las fibras periféricas, quedando fuera de su área de beneficio los fenómenos excitatorios del sistema nervioso central y, para resolver los problemas que plantean, ha sido necesario recurrir al uso de microelectrodos, acoplados a sistemas fieles y precisos de amplificación y registro. A la fecha, no existe una teoría completa sobre el registro con microelectrodos, ya que por considerárseles como meras herramientas de trabajo, sólo se ha atendido a aquellas de sus propiedades que, como veremos enseguida, puedan ser determinantes en su utilización.

Propiedades de los microelectrodos

Hasta ahora, el concepto de microelectrodo no está claramente establecido, ya que conforme se han ido afinando las técnicas para preparar electrodos delgados, el producto ha recibido el nombre de microelectrodo, así, Hodgkin y Katz (1949) llamaron microelectrodos a

las pipetas que introdujeron al axón gigante del calamar, aún cuando en estas el diámetro en la punta era de 60 μ. Asimismo, Brooks y Eccles (1947) entre otros autores, han calificado de microelectrodos agujas de acero adelgazadas hasta 50 μ de diámetro en la punta. Sin embargo, lo común, en la actualidad, es que el término microelectrodo quede reservado para los muy delgados, que en el caso de micropipetas, como las tipo Ling y Gerard (1949), presentan diámetros en la punta de 1 μ ó menos, aún cuando se acepta en este grupo los de 1 a 3 μ. Entre los metálicos, el término microelectrodo suele comprender desde 1 μ ó menos hasta 10 μ en el diámetro de la punta. La causa de estas restricciones son los problemas de registro que se presentan al sobrepasarse estos límites, y que se irán tratando más adelante.

Dadas las dimensiones de los microelectrodos, algunos de los cuales llegan a rebasar el límite de resolución del microscopio óptico, el índice más fiel para caracterizarlos es su resistencia eléctrica, siendo usual que ésta sea siempre superior a 1 M Ω, aunque, como se verá, también este criterio es debatible.

Dado que el problema fundamental a resolver con microelectrodos consiste en el registro de actividades unitarias "in situ", el mejor microelectrodo será aquél que permita registrar con toda fidelidad la actividad eléctrica de una unidad, con exclusión de la actividad contemporánea de las unidades vecinas. En consecuencia, las propiedades más importantes para definir la calidad de un microelectrodo serán las siguientes:

A.—Capacidad de resolución.

A semejanza de la capacidad de resolución óptica de un microscopio, la de un dispositivo de registro eléctrico está relacionada con la precisión de discernir la actividad entre estructuras vecinas, lo cual depende fundamentalmente del calibre del electrodo y obedece a los siguientes principios:

1). La diferencia de potencial recogida por un electrodo explorador situado en la porción activa de un tejido y otro electrodo indiferente a potencial cero o promedio, disminuye conforme aumenta la distancia entre el electrodo explorador y el punto donde se genera la actividad. Como puede apreciarse en la Figura 2, la amplitud del potencial recogido por un microelectrodo en distintos lugares del bulbo olfatorio y de la retina disminuye a medida que el electrodo se aleja del punto donde se origina la actividad. Este principio fundamenta la exploración de estructuras con capas histológicas diferenciables y permite, con aproximación de pocas micras, precisar el lugar de origen de un determinado tipo de actividad.

Fig. 2a.—Localización del sitio de origen de los distintos componentes del electrorretinograma tomando como base la profundidad a la que se registra la máxima amplitud.

2). Si en los distintos puntos de la superficie de la célula y en el medio intracelular el potencial eléctrico no varía, aún cuando exista entre el interior y el exterior de la célula una diferencia de potencial, no habrá flujo de corriente entre dos electrodos colocados dentro o fuera de la célula, y sólo se creará un campo externo y fluirá corriente cuando se establezca una diferencia de potencial entre dos regiones exteriores de la célula; pasando la corriente a través del medio conductor y regresando por dentro de la célula, y los puntos que se encuentren a potencial bajo en relación al sitio de registro, serán negativos, en tanto que los cercanos a las regiones de potencial alto, resultarán positivos. Dicho de otra manera, el signo del potencial captado con un electrodo extracelular es positivo en los puntos en que la corriente fluye hacia el exterior de la célula y negativo en aquéllos en que el flujo es hacia adentro. De acuerdo con este principio, resulta posible interpretar los cambios de potencial recogidos por un microelectrodo extracelular según la disposición histológica de los elementos activos; para ello ha sido necesario establecer las siguientes simplificaciones: (Lorente de Nó, 1952).

a) Todo el medio extracelular presenta la misma resistencia eléctrica y ésta es de naturaleza exclusivamente óhmica.

b) El potencial de acción recogido por un microelectrodo en la superficie de una célula nerviosa es proporcional a la densidad de co-

rriente en ese punto de la membrana y por tanto, diferirá en distintas regiones de ésta.

c) En los puntos donde se inicia la actividad eléctrica, el potencial de acción registrado presenta dos fases, negativa - positiva. En el si-

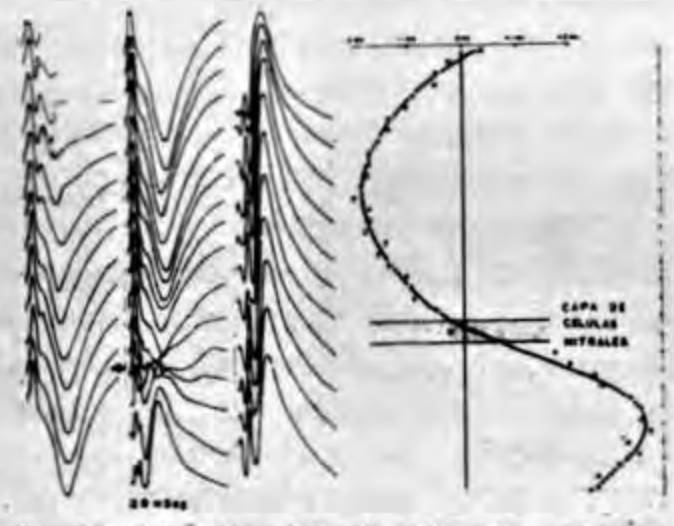


Fig. 2b.—Identificación del sitio de origen de la actividad evocada en el bulbo olfatorio, mediante el análisis de la amplitud y la forma en relación a la profundidad. La flecha indica la inversión del potencial. Cada división de la escala corresponde a 30 μ.

tio donde la conducción termina, el potencial presenta una imagen opuesta, positiva-negativa. En todos los puntos intermedios las fases son tres: positiva-negativa-positiva y su magnitud y duración relativa depende de la distancia entre el microelectrodo y los puntos en los que empieza y en los que termina la conducción.

ch) La disposición histológica de las neuronas en un campo determinado es susceptible de asimilación a un modelo aproximado de dis-

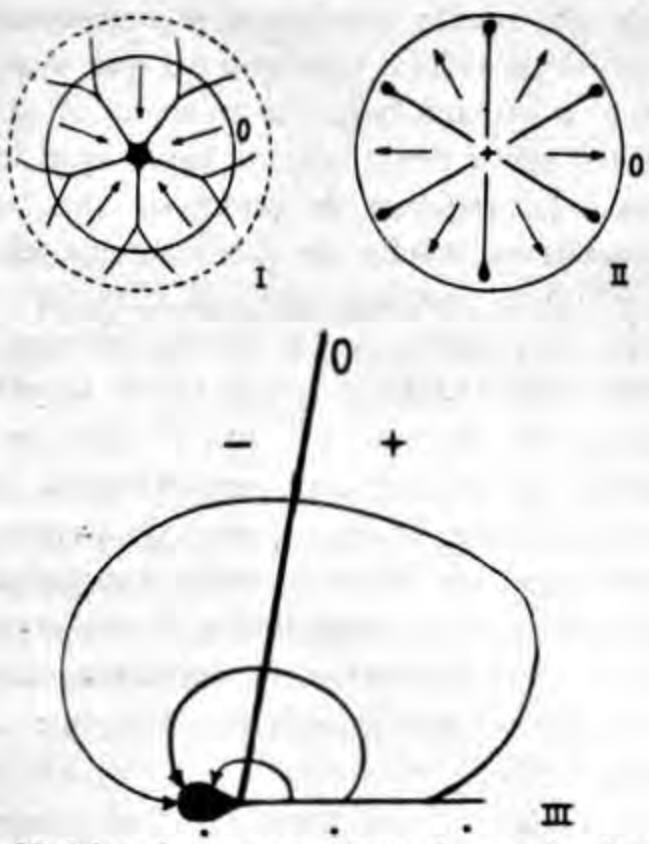


Fig. 3.—Modelos de campos neuronales, según Lorente de No (1953), ver explicación en el texto.

tribución geométrica, y entre éstos, los propuestos por Lorente de Nó (1952) son los siguientes (Fig. 3).

I) La distribución estadística de las neuronas presenta simetría radial, decreciente el número de somas y aumentando el número de dendritas al aumentar la distancia al centro del campo. Esta distribución se representa en el esquema por una sola neurona central con abundantes prolongaciones dentríticas, que se extienden radialmente a la zona marginal.

II) La simetría del campo también es radial, pero la densidad de somas neuronales aumenta del centro a la periferia, disminuyendo concomitantemente el número de prolongaciones dendríticas.

Aplicando al campo neuronal el principio 2, resulta que en (I) la corriente se establece en dirección opuesta a (2), como indican las flechas en la Figura 3. Además, ambos campos tienen en común que son cerrados, es decir, se encuentran limitados por una superficie isopotencial cero, o sea que un microelectrodo colocado dentro del campo, no captará los cambios de potencial que ocurran más allá de la superficie isopotencial.

III) La disposición en este caso ya no es radial sino que los somas abundan en regiones definidas y las dendritas, de distintos diámetros, en otras regiones. Al sobrevenir la activación se establecen una región negativa en la vecindad del soma y otra positiva en las dendritas, y entre ambas, una superficie isopotencial cero. Esta distribución es la más frecuente en el sistema nervioso.

Con estas bases se ha logrado avanzar considerablemente en el conocimiento de la excitabilidad de las distintas partes de la neurona, así como en el de las influencias interneuronales. Sin embargo, es fácil comprender que la resolución que permite un microelectrodo colocado en un campo neuronal no llega a satisfacer por completo la necesidad inicial de registrar la actividad unitaria con todas sus características, ya que como se ha mencionado antes, la disposición de las neuronas hace posible que su densidad llegue a ser en algunas regiones lo bastante alta para que resulte muy difícil aislar la actividad de una sola célula. Esta es una de las razones por las que se ha recurrido al registro intracelular, que permite mayor resolución debido a la alta impedancia de la membrana celular. Para tener una idea de la magnitud de este aislamiento, baste recordar que la caída de potencial a través de la membrana corresponde a una resistencia aproximada de 1000 ohms/cm², o sea que una señal generada por una célula inmediatamente vecina,

a aquella en cuyo interior está el microelectrodo, que alcance una magnitud de 100 mV, pasará al medio extracelular con una amplitud IR = 100 μ V, que al pasar la membrana de la célula en registro experimentarán otra reducción de $\frac{1}{1000}$, de manera que al interior de la célula llegará 1 x 10^{-7} V, o sea más de mil veces menor que el ruido espontáneo producido por un microelectrodo, como expondremos más adelante.

Por otra parte, la capacidad de resolución del microelectrodo hallase en relación con la constante de espacio de la membrana en cuanto al registro de fenómenos que se producen en zonas de la propia neurona, alejados del lugar del microelectrodo hállase en relación con la de registro; así la propagación electrónica en las dendritas obedece a una constante de longitud de 300 μ (Eccles, 1957). En otros tejidos, como el músculo estriado se ha descrito (Fatt y Katz, 1951) propagación a varios milímetros de distancia (Fig. 4).

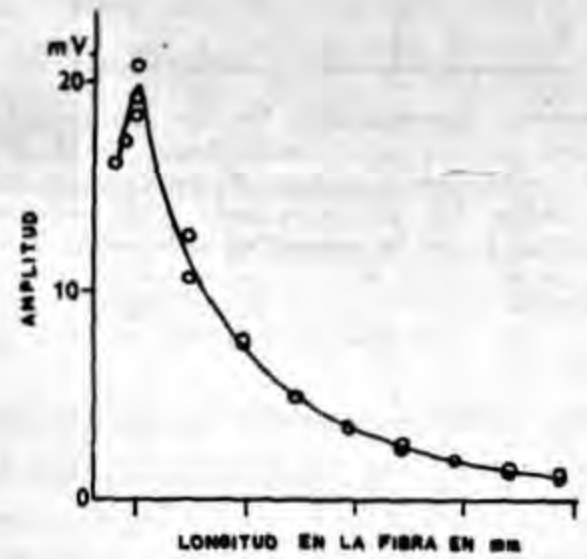


Fig. 4.—Disminución de la amplitud del potencial de placa conforme se aleja el microelectrodo de registro.

De lo expuesto puede inferirse que, en lo que afecta a su capacidad de resolución, los microelectrodos permiten conocer la actividad unitaria de las células excitables, aunque los sistemas biológicos en que se ha trabajado son aquéllos que por el tamaño de sus células toleran la introducción de microelectrodos, sin los problemas de reactancia fisiológica que serán tratados en la página 54, quedando por estudiar estructuras que, por su pequeñez, no permiten introducir microelectrodos, como sucede con las fibras C del sistema nervioso, en receptores sensoriales como los olfatorios y las terminaciones sensitivas, libres o encapsuladas y en otras células que constituyen una proporción importante del sistema nervioso, como son las ganglionares, estudiadas inicialmente por R. Eccles (1955) y las de la corteza cerebral, que lo fueron por Li y Jasper (1953) estas estructuras aun cuando permiten la introducción de microelectrodos, al cabo de poco tiempo son destruidas por ellos. En la actualidad, además muchos problemas de excitabilidad que están planteándose a nivel subcelular, no hay microelectrodos bastante pequeños para resolverlos tal es el caso de la propagación del proceso excitatorio en las fibras musculares estriadas, durante el acoplamiento entre los fenómenos de excitación y contracción, ya que según la hipótesis más verosímil, la propagación se hace a través del sistema tubular, y siendo el diámetro de cada túbulo del orden de 100 Å, es evidente que no hay manera de registrar directamente el paso del impulso con las técnicas actuales.

B.—Fidelidad.

Teniendo en cuenta que la separación del concepto fidelidad de otras de las propiedades de los microelectrodos puede parecer artificiosa, es necesario precisar un poco más el sentido en que va a ser tratado. Los microelectrodos tienen dos tipos principales de aplicación:

1.—La captación de la actividad procedente de células cuyos potenciales interesan únicamente como unidades de información; sin que importen las características de cada potencial. De esta suerte, el análisis afecta de manera principal a la secuencia temporal de la actividad unitaria; es decir, lo decisivo es que exista actividad o inactividad; en estos casos las variaciones de frecuencia de descarga constituyen el elemento de referencia más importante.

2.—El análisis de la actividad eléctrica neuronal independientemente de sus conexiones específicas, es decir, la neurona "estricto sensu" se toma como modelo para estudiar la excitabilidad; en este caso lo más importante no consiste en determinar la clave de transmisión de señales, sino el conjunto de parámetros que rigen la generación de corriente eléctrica en la neurona y por lo tanto, la amplitud de los potenciales de acción, las características de cada uno de sus componentes y las propiedades eléctricas de la membrana celular deben ser objeto de un análisis en el que se requiere el máximo de fidelidad del microelectrodo, es decir que sus constantes eléctricas no causen distorsión de las señales que recogen. Las particularidades más importantes a este respecto son las siguientes:

a) Resistencia óhmica.—En el capítulo anterior se presentó como la principal ventaja de los microelectrodos, su gran delgadez, ya que de ella depende la capacidad de resolución. Sin embargo, esta misma propiedad constituye su limitación más importante, ya que mientras menor sea el área de sección, mayor será su resistencia, la cual de acuerdo con la ley de Ohm para medios extendidos (Frank, 1958) $R = \frac{\varrho\, l}{A}$, donde ϱ es la resistividad específica del material, l representa la longitud y A el área de la sección. En la Figura 5 se muestra

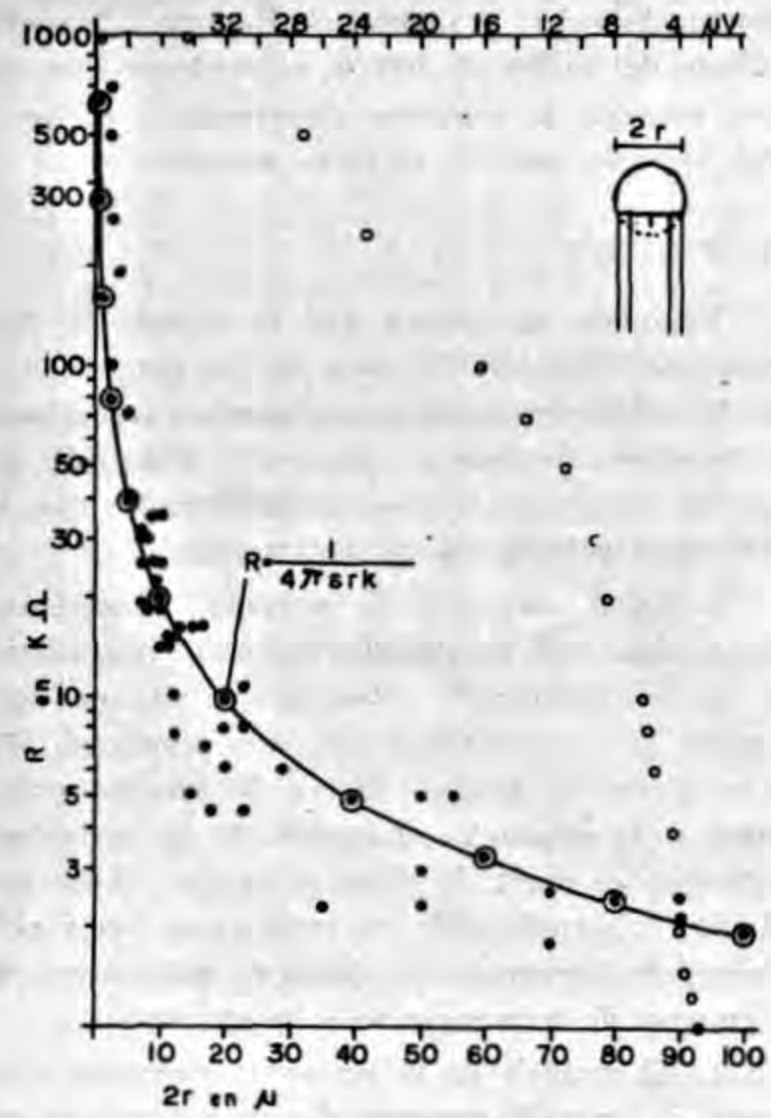


Fig. 5.—Relación del diámetro y la resistencia eléctrica en un microelectrodo tipo Svaetichin (1951).

la relación entre diámetro y resistencia para electrodos metálicos tipo Svaetichin (1951) que serán descritos ulteriormente.

La resistencia de micropipetas llenas con líquidos conductores es aún más alta que la de los microelectrodos metálicos. Las razones de esta diferencia son la mayor conductividad del metal y la superficie de registro más extensa, que en el caso del microelectrodo metálico es toda el área sin aislante (véase pág. 56), que toma la forma de un cono truncado, en tanto que la superficie de registro de una micropipeta es sólo el área del círculo formado por su punta. De cualquier manera, independientemente del tipo de microelectrodos que se utilice, producirá una gran caída del potencial que recoja, al quedar en serie con él, resultando además una corriente muy débil, lo cual explica que sólo se haya empezado a desarrollar el registro con microelectrodos cuando se dispuso de amplificadores adecuados y de dispositivos con entrada de alta impedancia, que al quedar en paralelo con el microelectrodo reducen la resistencia total del sistema electrodo-amplificador. Pero aún así, la resistencia sigue constituyendo un problema, sobre todo al combinarse con la capacitancia, como se tratará en el próximo inciso.

b) Capacitancia.—Sólo constituye problema en los microelectrodos de vidrio, ya que entre dos conductores, que son el líquido intersticial y el intracelular, y la solución que llena la pipeta, queda un dieléctrico que es el vidrio; de tal manera que según ilustra la Figura 6, una

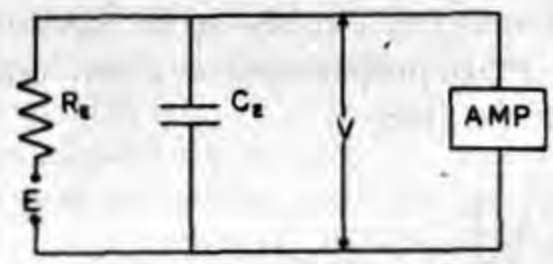


Fig. 6.—Modelo representativo de las propiedades eléctricas de una micropipeta intracelular, E: es el potencial real de reposo en la célula, R: es la suma de la resistencia ohmica del microelectrodo y la resistencia de la preparación, C: es la capacidad del condensador cuyo dielétcrico es el vidrio de la pipeta y cuyos conductores son la solución en el interior de la pipeta y el tejido, V: es el potencial registrado.

micropipeta electrodo puede representarse, desde el punto de vista eléctrico, por una capacitancia y una resistencia colocadas en paralelo. La distorsión producida por la capacidad, combinada a la resistencia, se manifiesta en la constante de tiempo del microelectrodo, que si consideramos los valores de resistencia calculados en el inciso anterior y los de capacidad, que según Nastuk y Hodgkin (1950) es de 1 µµ F por mm de electrodo inmerso en el tejido, resulta que:

$\tau = RC = (5 \times 10^{7}) \times (1 \times 10^{-12}) = 5 \times 10^{-5}$ seg por cada mm donde R es la resistencia, C es la capacitancia y τ la constante de tiempo, o sea el tiempo necesario para que el voltaje aumente hasta el 63% del total.

Sin embargo, Brock y col. (1952) con microelectrodos de $2{,}3 \times 10^{7}$ ohms encontraron una constante de tiempo de $4{,}5 \times 10^{-5}$ seg, a 2,5 mm de profundidad en médula espinal de gato, lo cual implica cierta diferencia con lo previsto, que sería 5.75×10^{-5} seg. Para explicar esta

discrepancia, plantearon la posibilidad de que al introducirse el microelectrodo en el sistema nervioso, la capacidad no sea igual en toda su longitud, aunque Freygang (1958) usando micropipetas de 4 x 10^{-7}f, por milímetro, en el cuerpo geniculado lateral del gato, midió la capacidad a 15 mm de profundidad, encontrando 6 x 10^{-6}f, resultado que se ajusta a lo previsible, en el sentido de que la disminución de capacidad producida por el aumento de grosor de las paredes de la pipeta, es proporcional al aumento debido a la mayor área conductora. Otra posibilidad a tener en cuenta son las variaciones de resistencia del electrodo, que se tratarán oportunamente. Debido a su resistencia y a su capacidad, los microelectrodos determinan tres tipos principales de distorsión:

I) Retardo de la fase de ascenso de los potenciales registrados, que es mayor cuanto mayores sean R y C.

II) Caída del voltaje captado por ellos, que está dada por la ecuación $V = E - \tau \frac{dv}{dt}$ (Frank, 1959), donde V es el voltaje registrado, E es el voltaje producido por la célula, τ es la constante de tiempo, o sea que cuanto mayores sean la resistencia y la capacitancia, menor será la corriente recogida.

III) Caída del voltaje en función de la frecuencia, que para ondas sinusoidales está dada la ecuación.

$$f = \frac{1}{Z \pi RC} \text{ (Frank, 1959)}$$

donde f es la frecuencia a la cual el voltaje registrado cae a un 70% del valor del voltaje producido y Z la impedancia del electrodo.

Dadas las limitaciones impuestas por la constante de tiempo, ha sido una preocupación justificada el reducirla, lo que se ha logrado principalmente, aumentando la conductividad del líquido colocado dentro de la pipeta, así Nastuk y Hodgkin (1950) redujeron a menos de 10^{-4} seg la τ de los microelectrodos, llenándolos con KCI 3 M, en lugar de con KCI isotónico, que era el líquido utilizado por Ling y Gerard (1949) y con el cual τ era 5 x 10^{-4} seg. Pero aún así, resultó alta, y en la actualidad se aceptan para analizar con precisión la excitabilidad, sólo microelectrodos con $\tau = 3 \times 10^{-5}$ seg (Nastuk, 1953) que pueden prepararse cuidando que los microelectrodos no queden expuestos demasiado tiempo a la acción del calor, y con otras precauciones que detallaré más adelante.

c) *Polarización.*

Cuando un electrodo recibe la corriente generada en un tejido, se establece en la zona de contacto entre ambos, un equilibrio iónico para el cual se intercambian cargas en la interfase tejido-electrodo. Si la corriente es alterna, el sentido del flujo iónico se invierte en cada fase del ciclo; en cambio cuando es continua, predomina el desplazamiento de iones en un sentido y entonces, dependiendo de la cantidad de éstos, de su número de transporte, de la relación entre la movilidad de los aniones y la de los cationes y de las propiedades químicas y fisicoquímicas de las fases (Höber, 1945; Yanof, 1965) se desarrolla una fuerza contraelectromotriz de polarización, que se comporta como una impedancia añadida a la del electrodo, reduciendo la corriente a través de éste.

La polarización es más intensa cuando menor sea la superficie de contacto entre las fases, de ahí que, aunque el fenómeno opere en cualquier electrodo, su importancia es mucho mayor en los microelectrodos, como factor limitante de la fidelidad y de la capacidad de resolución.

El problema se reduce utilizando sistemas de electrodos reversibles, los llamados electrodos impolarizables, como el de Ag-AgCl, que funcionan de la siguiente manera:

Supóngase que los sistemas A y B, de la Figura 7 constituidos por plata metálica sobre la

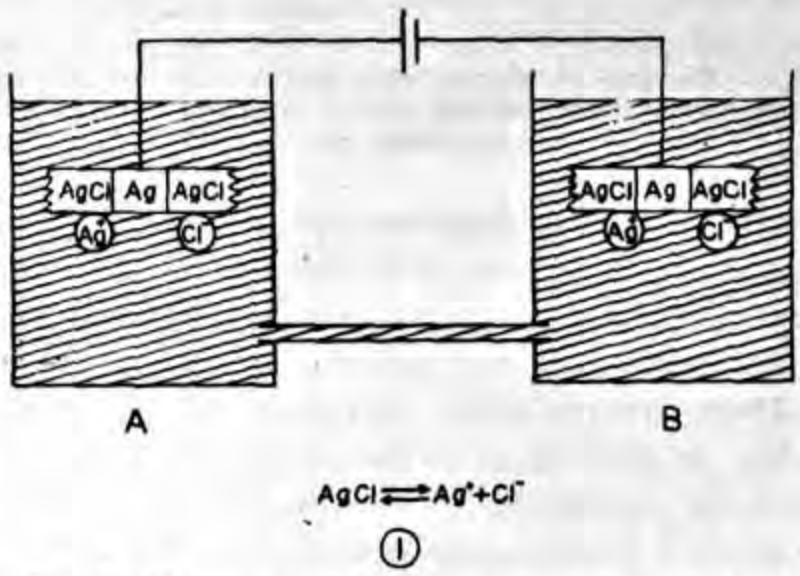


Fig. 7.—Sistema reversible de electrodo de Ag-AgCl.

que se ha depositado por electrólisis en una solución rica en Cl, una capa de cloruro de plata, son conectados entre sí y se hace pasar una corriente eléctrica, por ejemplo de A hacia B; entonces, en A se reduce el AgCl, liberando Cl^- a la solución electrolítica, en tanto que en B, se depositan Cl^- en el electrodo, aumentando la cantidad de AgCl en él a expensas de los Cl^- liberados en A, donde la reac-

ción (1) se desplaza a la derecha, mientras que en B, el desplazamiento es a la izquierda, por tanto, de acuerdo con la ley de acción de masas, en el electrodo de A, se equilibra la reacción captando Cl^- de la solución y en el electrodo de B, hay cesión de Cl^-. De esta manera se evita la polarización al no producirse flujo neto de iones en ningún sentido.

Entre los sistemas de electrodos impolarizables, el más usado es el de Ag-AgCl debido a que el AgCl es casi insoluble en agua y a que el Cl^- es muy abundante en los líquidos corporales. Sin embargo, dada la gran resistencia eléctrica de la plata, así como la facilidad con que se desprende el AgCl del electrodo, no resultan prácticos los microelectrodos de plata y el sistema suele usarse acoplado a micropipetas, utilizando el líquido que las llena como puente salino (Fig. 8).

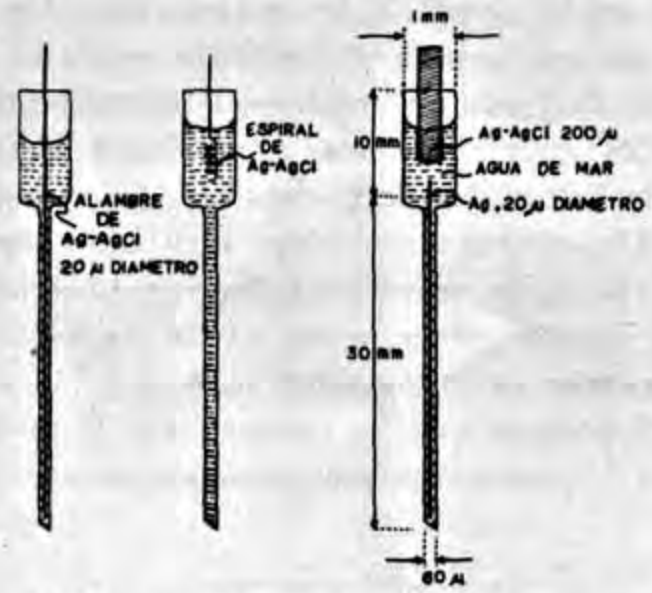


Fig. 8.—Modelos de pipetas electrodo en las que se usa una solución como puente salino acoplado a un electrodo impolarizable de Ag-AgCl.

Otro electrodo impolarizable de uso frecuente es el de Pt (Frank y Becker, 1964), pero sus especiales características químicas y eléctricas impiden usarlo con microelectrodo.

Dados los problemas mencionados, la polarización se manifiesta principalmente en el registro de potenciales lentos con microelectrodos metálicos y son la causa principal de que el empleo de éstos quede circunscrito al registro de la actividad eléctrica rápida de las células. En la Figura 9 se ilustra la relación que existe entre la resistencia del electrodo y la frecuencia de la corriente.

ch) Potencial de unión.—Una consecuencia importante de que los microelectrodos metálicos no sean utilizables en el estudio de los fenómenos eléctricos lentos debido a la polarización, es que los registros intracelulares se han desarrollado a base de micropipetas, en las cuales se establecen diferencias de potencial entre el electrodo y el tejido, que son: *1)* diferencia entre el metal y el líquido que llena la pipeta; *2)* diferencia entre el líquido de la pipeta y la solución biológica. Obviamente, los cambios de potencial que más interesan son los que ocurren entre el líquido de la pipeta y el tejido. Por lo tanto, para determinar el potencial de reposo de una célula es necesario corregir la diferencia obtenida al introducir el microelectrodo, en función de la diferencia de potencial que normalmente hay entre las dos soluciones de concentración y composición distintas que son la que llena la pipeta y el líquido intracelular. En el caso particular de las micropipetas para uso intracelular, se ha encontrado que el potencial de unión depende de varios factores, algunos de ellos inatacables desde el punto de vista teórico, por ejemplo: Nastuk y Hodgkin (1950) describieron como una de las ventajas de llenar las micropipetas con solución 3 M de KCl, en lugar de Ringer, como había sido recomendado por Ling y Gerard (1949), la reducción del potencial de unión en un promedio de 10 mv. Asimismo, Nastuk (1953) observó que el tiempo de ebullición necesario para llenar las pi-

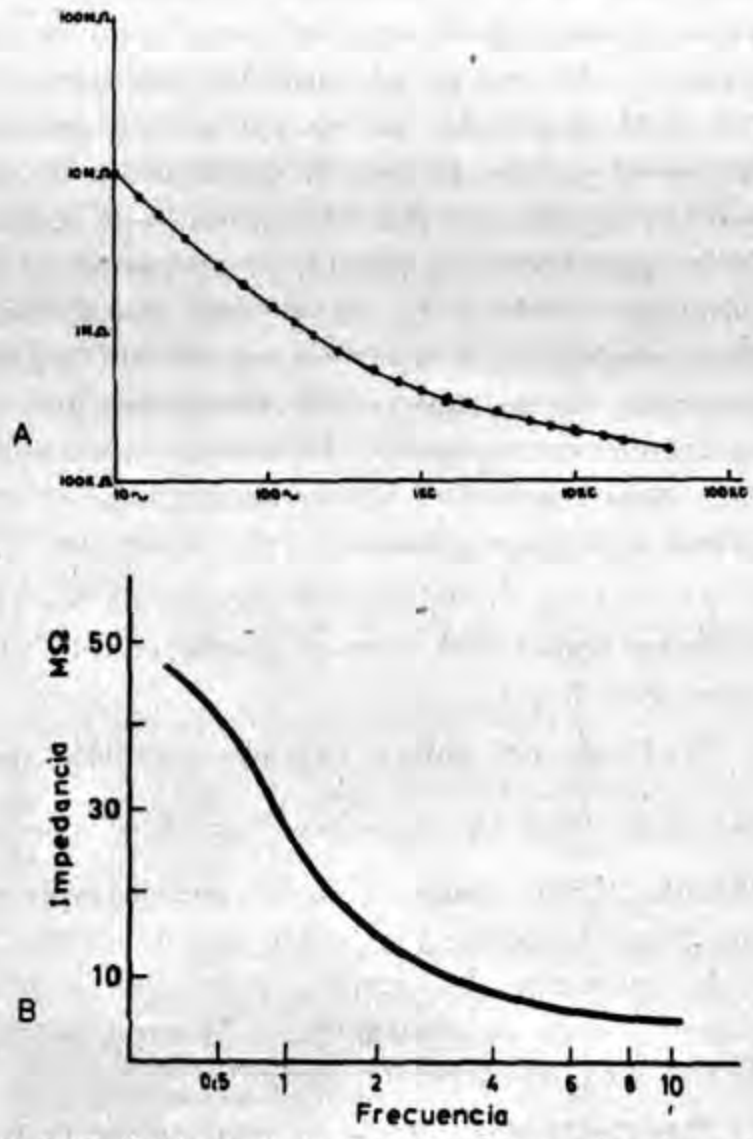


Fig. 9.—Relación entre impedancia de un microelectrodo y la frecuencia de la señal que recibe A-microelectrodo de platino (tomada de Gesteland y col., 1959); B-micropipeta llena con KCl 3m (tomada de Donaldson, 1958).

petas con la solución conductora (véase pág. 46) es un factor importante en el valor del potencial de unión, y a fin de reducirlo, suprimió ese paso en la preparación de los microelectrodos. Sin embargo, Adrian (1956) encontró que el problema es aún más complejo, ya que: 1º El potencial de reposo resulta función del potencial de punta del microelectrodo (Fig. 10). 2º Dos electrodos dan valores significativamente distintos para el potencial de reposo de la misma célula y 3º en microelectrodos a los que se ha roto la punta, pero que aún son útiles, el potencial de reposo medido cambia sustancialmente. Ninguna de estas variaciones corresponde a diferencia en la magnitud del potencial de acción. Además, cambiando la concentración del líquido extracelular, observó el mismo autor que el potencial de punta exhibe un sesgo peculiar para los distintos iones probados (Na^+, K^+, Cl^-), lo que explicó suponiendo la presencia de una sustancia (probablemente proteínica) que bloquea la punta del electrodo y reduce la movilidad del Cl^-, exagerando la diferencia de movilidades entre Na^+ y K^+; este tipo de bloqueo, además de manifestarse por la alteración en el comportamiento iónico, lo hace aumentando la resistencia del microelectrodo simultáneamente con el potencial de punta. Otra posibilidad sugerida para explicar estas variaciones, es el bloqueo de la punta del electrodo, por elementos subcelulares v. gr. Mitocondrias (Adrian, 1967).

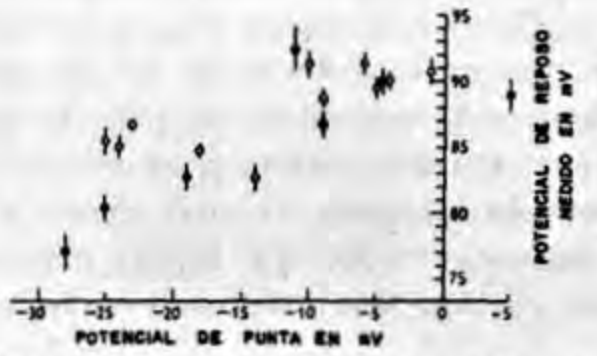


Fig 10.—Efecto del potencial de punta de la micropipeta sobre el potencial de reposo medido en 2 músculos.

Por otra parte, se ha observado (Levine, 1966) que los potenciales de punta son tanto mayores cuanto más tiempo han permanecido llenos antes de ser utilizados, como puede apreciarse en la Figura 11.

El problema suscitado por estos potenciales ha constituido un serio escollo para la interpretación de los de reposo, sobre todo en neuronas de vertebrados, que por su menor tamaño y por los movimientos a que están sometidas, pueden exponerse a variaciones mayores de los potenciales de unión, disminuyendo así la fidelidad del sistema.

d) Introducción de señales parásitas.—Hasta ahora el problema de fidelidad se ha tratado sólo en su aspecto de captación de la señal; pero, además, hay que tener en cuenta que una vez que el microelectrodo recoge una diferencia de potencial, la transmite al sistema amplificador, y lo que ocurre en la práctica es que además de la señal propia del experimento, transmite variaciones de potencial eléctrico ajenas al dispositivo biológico y que en conjunto reciben la denominación de *ruido;* queda entonces claro, que la fidelidad será proporcional a la razón señal/ruido.

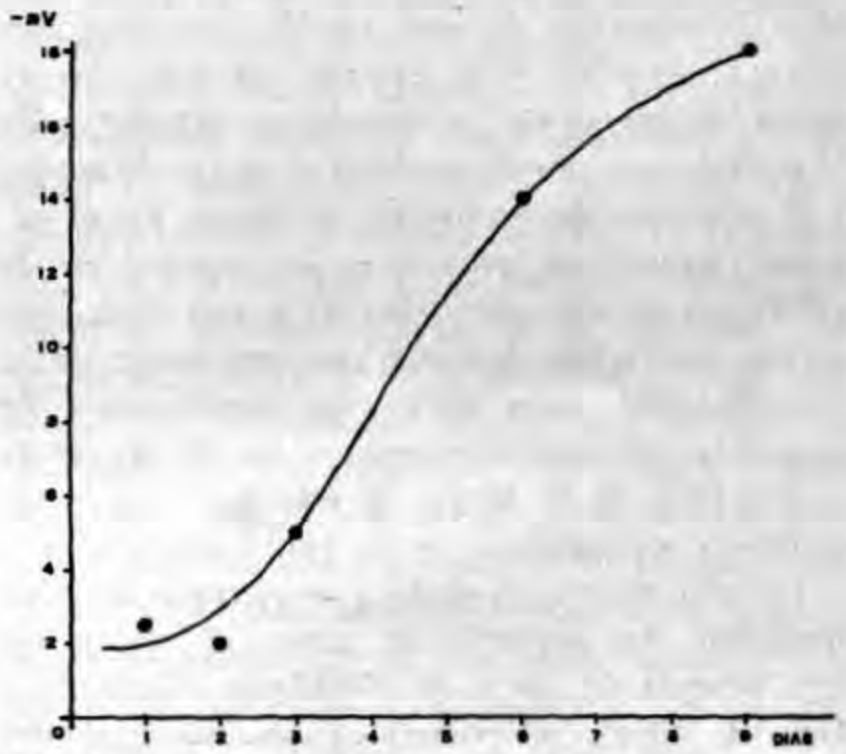


Fig. 11.—Aumento de la resistencia de micropipetas, con el tiempo de almacenamiento después de haberlas llenado con KCl 3 m construída según datos de Levin, (1966).

El elemento ruido es otro de los factores limitantes del empleo de microelectrodos. Su magnitud está dada por la siguiente ecuación: (Gesteland y col., 1959).

$$E = \sqrt{4\ KTR\Delta F}$$

donde E es la amplitud del ruido; K es la constante de Boltzman; R es la resistencia, T la temperatura absoluta y ΔF es la frecuencia de paso de banda.

Según esto, la amplitud del ruido es proporcional a la raíz cuadrada de la resistencia, considerada como la parte real del número complejo que es la impedancia del microelectrodo. En la Figura 12 puede apreciarse en *A* la relación entre la resistencia y el ruido, y en *B*, la dependencia que la razón señal/ruido muestra respecto a la resistencia del microelectrodo.

e) Reactancia fisiológica.—Bajo este concepto, en general poco usado en los trabajos sobre instrumentación, quedan comprendidas las modificaciones que se presentan en un captador de energía (en este caso el microelectrodo) y en la estructura cuya actividad se registra, como resultado de su mutua influencia. Evidentemente, mientras mayor sea la reactancia fisiológica de un sistema, menor será la fidelidad de los datos que proporcione. Aunque en teoría las manifestaciones posibles de reactancia fisiológica son muchas más, las que se han descrito en la práctica, pueden agruparse de la siguiente manera:

I. *Lesión de la célula por el microelectrodo.* Introducir un microelectrodo a una célula implica la apertura de una vía de comunicación entre el interior y el exterior de ella. En el mejor de los casos, la membrana celular sella el orificio por donde penetró el microelectrodo, y el potencial de reposo no se altera. En el extremo opuesto se encuentra la ruptura de la célula por el microelectrodo. El grado de la alteración producida depende por una parte de la relación que haya entre las dimensiones de la punta del microelectrodo y las de la célula y, por otra, de la forma de ésta y de las características topográficas de la penetración.

En una estructura dada, por ejemplo la fibra muscular del sartorio de rana, al registrarse con pipetas de 10 μ de diámetro (Graham y Gerard, 1946), se encuentra un descenso del 20% en el potencial inicial de reposo en el curso del primer minuto después de la penetración, en tanto que cuando se efectúa con pipetas de menos de 1 μ de diámetro en la punta el potencial de reposo no disminuye (Ling y Gerard, 1949); (Nastuk y Hodgkin, 1950) aún cuando se introduzcan simultáneamente dos o tres pipetas (Nastuk y Hodgkin, 1950). En células ganglionares, Eccles (1955) ha descrito lesión al introducir microelectrodos de 1 μ de diámetro en la punta, y Li y Jasper (1953) encontraron alteraciones análogas en neuronas pequeñas del sistema nervioso central.

La importancia de las características geométricas de un tejido es evidente y, ya Brock, Coombs y Eccles (1952) en su trabajo pionero señalaron como uno de los problemas del registro intracelular en el sistema nervioso central, la posibilidad de que el microelectrodo penetre a la neurona a nivel de una prolongación y no en el soma, con lo cual aumenta la probabilidad de lesión. Otro caso ilustrativo es el de las neuronas del epitelio olfatorio, que por su pequeñez y su disposición fusiforme dificultan extraordinariamente el registro intracelular (Takagi y Shibuya, 1961). Si se considera que en el registro "in situ", los movimientos del animal llegan a causar desplazamientos del microelectrodo, resulta más limitante aún este factor en la fidelidad del sistema microelectrodo-célula.

II. *Reacción de cuerpo extraño.*—Otra alteración producida por la sola presencia del microelectrodo en el seno de un tejido, es la reacción de cuerpo extraño que se produce al implantar permanentemente microelectrodos extracelulares, ya que la fibrosis formada alrededor del electrodo disminuye la amplitud de las señales captadas por éste, operando así como un aumento de resistencia eléctrica.

Otro aspecto del problema es la reacción aguda del tejido al microelectrodo, tratando de eliminarlo; así es la colocación de micropipetas para registrar la actividad eléctrica lel receptor olfatorio de la rana, acelera el movimiento ciliar de la mucosa olfatoria, el cual tiende a expulsar al microelectrodo. En tejido muscular, el problema de los movimientos es aún más patente.

III. *Alteraciones químicas.*—Referentes sobre todo a la difusión de sustancias del interior de la micropipeta al medio, sobre todo al intracelular. Según los cálculos de Nastuk y Hodgkin (1950) del interior de una micropipeta de 1 μ de diámetro en la punta y llena con solución 3 M de KCl, fluyen a la célula 6×10^{-14} Mol/min lo cual es compatible con la entrada normal de este ion al interior de una célula muscular esquelética. Sin embargo, mientras menor es el volumen celular, mayor es el problema creado por la alteración del equilibrio iónico, y en el sistema nervioso central, Brock, Coombs y Eccles (1952) para neuronas con 50 μ de diámetro, calculan que el trastorno es considerable. Curtis (1964), al revisar las técnicas microelectroforéticas ha realizado un concienzudo análisis de los factores que gobiernan el paso de iones a través de micropipetas.

IV. *Alteraciones eléctricas.*—Aunque no son intrínsecamente debidas al microelectrodo, llega a través de éste a las células, la corriente de rejilla del sistema amplificador de entrada, ya que si se toma en cuenta la pequeña área cubierta por el microelectrodo aún cuando la corriente sea baja, la densidad que alcanza en la región inmediatamente en contacto con el microelectrodo puede ser suficiente para afec-

tar la célula; así, una corriente de 10^{-5} ó 10^{-6} a/cm² puede producir intensos efectos catelectrotónicos sobre una célula, y según Grundfest (1955) dichos efectos se presentan aún con 10^{-10} a $10^{-11}a$, fluyendo a pequeñas neuronas de unas 20 μ de diámetro. En los primeros estudios intracelulares del sistema nervioso, Brock y col. (1952) trabajaron con corrientes de reja de $10^{-11}a$, y sólo se evitó el efecto catelectrotónico por la gran superficie de las motoneuronas registradas (3×10^{-4} cm²). Actualmente se procura que la corriente de reja sea cuando mucho de $10^{-13}a$.

Además hay que considerar que este flujo de corriente eléctrica tiende a causar migración electroforética de iones entre la pipeta y el tejido.

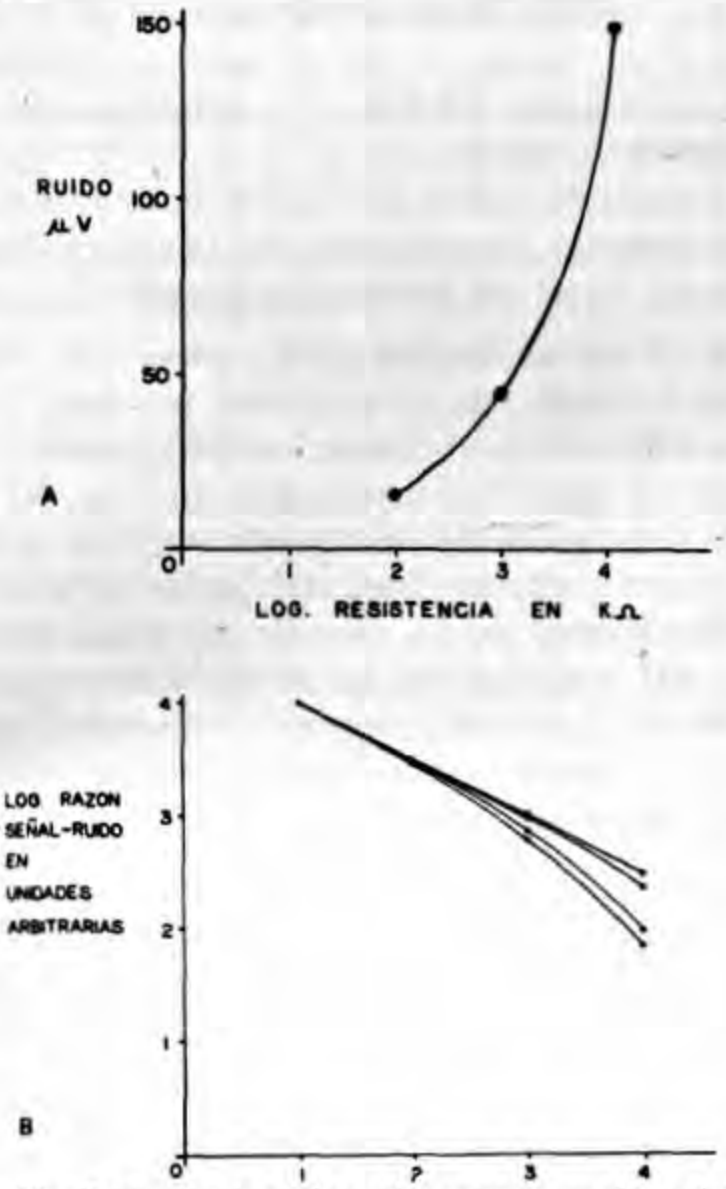


Fig. 12.—Dependencia del ruido respecto a la resistencia en microelectrodo metálico. A—Relación entre ruido y resistencia; B—Relación entre razón señal/ruido y resistencia (Renshaw y col., 1941).

Preparación de microelectrodos

A. *Microelectrodos metálicos.*—Se considerarán bajo esta denominación los distintos tipos de microelectrodos en los que el extremo en contacto con el tejido es de naturaleza metálica, aunque no todo el microelectrodo lo sea. En su preparación se distinguen dos etapas, 1) el adelgazamiento hasta las dimensiones de microelectrodo y 2) el aislamiento de todo el metal, exceptuando la punta, destinada a ser el único punto de registro.

1) *Adelgazamiento.*—Se pueden considerar dos tipos de técnicas en la actualidad, en una, se recurre al calor, fundiendo el metal dentro de una pipeta. En otra, se adelgaza directamente el metal por medio de electrólisis.

a) *Adelgazamiento por calor.*— En una de las primeras técnicas de preparación de microelectrodos, Taylor (1925) logró adelgazamientos hasta de 1 μ en la punta, o menos, introduciendo alambre de platino en un capilar de cuarzo, que luego estiraba a la flama de un microincinerador como puede apreciarse en la Figura 13; en años ulteriores se siguió utilizando el calor aún cuando el microelectrodo fuera íntegramente de metal. En la década de 1950-1960 aparecieron diversas técnicas para adelgazar microelectrodos mediante calentamiento; así en 1951, Svaetichin, para lograr un mejor aislamiento, recurrió al empleo de plata en aleación, que era introducida a un tubo de vidrio que luego se estiraba a la flama de oxígeno y se adelgazaba hasta sus dimensiones finales mediante una microflama. A fin de disminuir la oxidación en la superficie de contacto entre electrodo y tejido, y de aumentar el área de contacto entre ambos, ideó cubrirlos con una capa de sodio y, mediante electrolisis, con una de negro de platino, el cual también disminuye la resistencia eléctrica, y al aumentar la superficie, reduce el problema de polarización.

Dowben y Rose (1953) crearon otra técnica, llenando sus pipetas con galio y con indio, que una vez fundidos, tienen la propiedad de "mojar" el vidrio, lo que facilita el llenar pipetas con ellos, dejando luego solidificar el metal en su interior y en esas condiciones se estiran, después de lo cual se empuja la delgada columna de metal con una aguja, hasta que se forma en la punta de la pipeta una gota de 30 a 50 μ de diámetro, que luego se expulsa, cubriendo la superficie de contacto de la pipeta y el tejido, con oro y con negro de platino, ambos en baño electrolítico. El diámetro de punta de estos electrodos es de 2 a 4 μ.

b) *Adelgazamiento por electrólisis.*—Se basa en la cesión de iones que hace un metal a una solución electrolítica cuando, colocado en el seno de ella, se le utiliza como ánodo al paso de la corriente eléctrica. En el cuadro siguiente se encuentra una relación de las soluciones electrolíticas y de los metales más usados, que son el acero y el tungsteno, este último con la ven-

taja de que su mayor ductilidad permite adelgazarlo más que al acero sin que se haga quebradizo. En la excelente revisión de Frank y Becker (1964) se encuentran detalladamente descritas las técnicas de preparación.

Metal	Solución electrolítica	Autores
Acero	34 ml de H_2SO_4 + 42 ml de H_3PO_4 – 24 ml de H_2O	Grundfest y col. (1950)
Acero	HCl 1 M	Bishop y Collin (1951)
Acero	H_2SO_4, H_3PO_4 y H_2O a partes iguales	Mills (1962)
Tungsteno	KOH o KNO_2 en solución saturada	Hubel (1957)
Tungsteno	NaOH 0,5 M	Mills (1962)

La corriente eléctrica no es crítica, pudiendo usarse desde la que da una pila de 2 V. hasta la alterna de 120 V.

2) *Aislamiento.*—Una vez logradas las dimensiones necesarias, es preciso aislar toda la superficie del microelectrodo que no esté destinada al registro; esto se logra mediante lacas y barnices especiales, como el Formvar Enamel 9825, la Bakelite L 3128, etc. (para mayores detalles, consúltese la revisión de Frank y Becker (1964). cientemente se ha incorporado otra técnica de súltese la revisión de Frank y Becker (1964). Otra técnica de aislamiento para microelectrodos de platino, consiste en cubrirlos con vidrio derretido, que al solidificarse, forma una capa aislante (Wolbarsht y col., 1960); este procedimiento para aislar ya había sido empleado con macroelectrodos, al igual que los antes mencionados. Evidentemente los problemas derivados del aislamiento han constituido limitaciones importantes, ya que una vez aplicado el barniz, por tensión supercial tiende a retraerse, dejando sin aislar una extensión mayor que lo deseable.

B. *Preparación de micropipetas electrodo.*—La preparación de micropipetas llenas con una solución conductora que, actuando como puente salino transmita la corriente bioeléctrica a un electrodo metálico impolarizable, sobre todo Ag – AgCl o Pt, suele realizarse en dos etapas que por su técnica y por su problemática se considerarán por separado:

1) *Estiramiento de las micropipetas.*—El principio fundamental de las diversas técnicas es el estiramiento de un tubo capilar de vidrio, calentando en su parte media y aplicando en los extremos (en uno solo o en ambos) una fuerza suficiente para estirar la porción reblandecida por el calor, hasta dividir en dos micropipetas el tubo original. Esta etapa, a su vez, comprende las siguientes:

a) *Elección del tipo de vidrio.*—Las cualidades del vidrio más adecuado para micropipetas, son, al igual que las de los metales tratados en el capítulo anterior, de 3 órdenes:

I. *Mecánicas.*—Así, el mejor vidrio será el que tenga la resistencia mecánica suficiente para que aún adelgazado hasta las dimensiones de una micropipeta no se rompa al introducirlo a los tejidos o al soportar sus movimientos.

II. *Eléctricas.*—Mientras mayor sea la constante dieléctrica del vidrio, mayor seguridad habrá de que el microelectrodo sólo registrará en su extremidad, aumentando así la capacidad de resolución, que, como ya se indicó depende del ángulo sólido entre el electrodo y la fuente de actividad.

III. *Químicas.*—El mejor material es el químicamente inerte, a fin de que no reaccione con los líquidos biológicos, y asimismo que sea insoluble en ellos.

El tipo de vidrio que más se aproxima a las características mencionadas, es el de borosilicato (Pyrex), cuyo uso es ya generalizado.

b) *Tratamiento del vidrio, previo al estiramiento.*—Dado que el problema principal para llenar los microelectrodos, es precisamente su delgadez, resulta indispensable eliminar del vidrio toda partícula que pueda obstruir la luz de la micropipeta. Para tal efecto se recurre a detergentes, siendo uno de los procedimientos más comunes, el conservar los trozos de vidrio en solución jabonosa y después mantenerlos durante varias horas (12 a 24) en una mezcla de $KMNO_4$ y H_2SO_4, lavándolos luego con cuidado con agua destilada y secándolos completamente a fin de que el calor se reparta de modo uniforme en el tubo y no se acumule el líquido en la parte media, que recibe más calor.

El estiramiento del vidrio puede hacerse de varias maneras, pero en todas ellas se encuentra el mismo patrón, que comprende las siguientes maniobras:

I. Aplicación de calor a la parte media del tubo; recurriéndose a varios tipos de fuentes caloríficas, la utilizada por Taylor (Fig. 13) era una microflama de mechero. Alexander y Nastuk (1953) introdujeron el empleo de una resistencia eléctrica, que es actualmente la fuente de calor más usada para este propósito, aunque también se emplea flama directa con instrumentos de precisión, como la microforja de De Fonbrune.

II. Tracción sobre uno o ambos extremos del tubo, a fin de estirar la porción reblandecida por el calor, adelgazándola. La línea de tracción debe ser lo más recta posible a fin de evitar todo movimiento de lateralidad, que

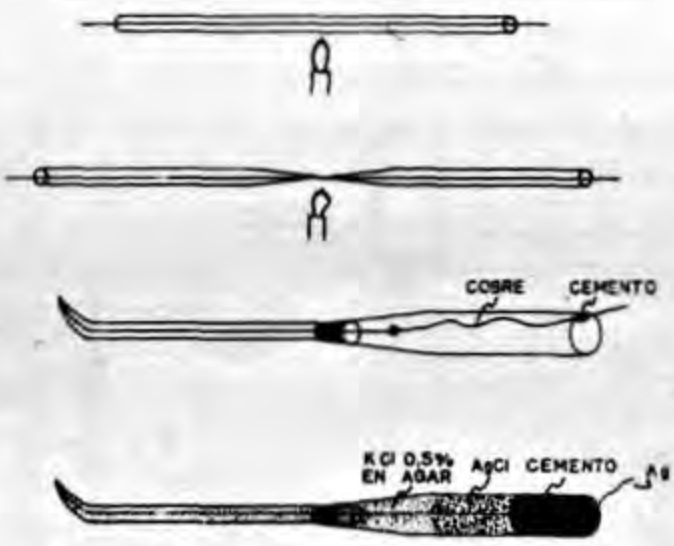


Fig. 13.—Técnica de Taylor para producir microelectrodos con punta metálica y cubierto de cuarzo (reproducido de Taylor, C. V., *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.* 22: 147-150, 1925).

al no seguir la dirección del eje mayor del tubo, induciría deformaciones o aún ruptura de la pipeta antes de su adelgazamiento final. La fuerza aprovechada en la tracción puede ser de varios orígenes; (considerando la elaboración no manual) como se muestra en la Figura 14; ellos son la gravedad, la tensión de un resorte, la fuerza generada por un solenoide y la tracción de una banda de caucho. El sistema de solenoide fue empleado en un principio por Alexander y Nastuk (1953) y ulteriormente ha servido de base a otros dispositivos.

2) *Llenado de las micropipetas.*—Dada su delgadez, no es posible llenar las micropipetas con la solución conductora mediante presión manual para tener una idea aproximada de la fuerza que sería necesario aplicar, basta calcular, de acuerdo a la ley de Poiseuille, la presión necesaria para impulsar en 1 seg una columna de agua a lo largo de 1 mm en un tubo capilar de 2 μ de diámetro.

$$P = \frac{3{,}14 \times 4 \times 19^{-9} \times 8 \times 10^{-1}}{1{,}6 \times 10^{-17}} = 1{,}3 \times 10^{7} \ \frac{\text{dinas}}{\text{cm}^2}$$

En la práctica se considera que sólo las pipetas cuyo diámetro en la punta es mayor que 5 μ pueden ser llenadas a mano, con jeringa o con otra pipeta más delgada. Por esta razón ha sido necesario idear técnicas más o menos elaboradas para llenarlas, como son las siguientes:

a) *Técnica de Ling y Gerard (1949).*—Consiste en colocar las pipetas en una solución isotónica de KCl y aumentar la temperatura hasta la ebullición; dado el efecto nocivo que el calentamiento ejerce sobre la punta de las pipetas, se acorta el tiempo de ebullición abatiendo la presión, de manera que en unos 30 min se consigue que se llenen, en tanto que a la presión atmosférica, tardarían varias horas. La ebullición es necesaria dado el mecanismo de llenado de las pipetas; como puede apreciarse en la Figura 15, la porción cercana a la punta se llena por capilaridad, el otro extremo, por escurrimiento del líquido, o manualmente, pero queda una parte, situada en el tallo de la pipeta, que queda una parte, situada en el tallo de la pipeta, que contiene aire y es la que justifica tanto ésta como las demás técnicas de llenado.

Durante la ebullición, el aire asciende en forma de burbuja y el espacio vacío se llena con el líquido.

b) *Técnica de Tasaki y col.(1954).*—La ebullición en KCl 3 M, que, como se indicó con anterioridad sustituyó a la inicial solución isotónica de esta sal, tampoco es inocua, ya que causa corrosión en las puntas, y por esta razón, se le sustituye por alcohol metílico absoluto, cuyo punto de ebullición es menor que el de la solución de KCl y así se logra, también reduciendo la presión, que en 10 min a una temperatura de 25 a 40° se llenen totalmente las micropipetas; esto se sigue de un corto lapso a la presión ambiental (5 a 20 min) hasta que desaparecen todas las burbujas y luego se pasan las pipetas a un recipiente con agua destilada en el que bajo condiciones análogas a las del llenado, se dejan de 2 a 3 min, a fin de que el agua sustituya al alcohol y luego se pasan a solución de KCl 3 M durante 5 a 7 min, manteniéndose la temperatura por abajo de 45° y dejándose la presión ambiental; después, se someten durante 30 min a presión reducida, y finalmente se dejan en esa solución para empezar a ser utilizados el día siguiente.

Después se han eliminado de esta técnica algunos pasos y, actualmente los que se siguen son la ebullición inicial en alcohol y las sustituciones se dejan a la temperatura y presión ambientales, por simple difusión, lo cual se logra habitualmente en menos de 48 h.

c) *Técnica de Nastuk (1953).*—Aunque anterior a la de Tasaki, queda colocada en el extremo en cuanto a supresión del llenado por ebullición. La razón fundamental para que su autor recurriera a ella fue la observación de

que los potenciales de unión líquida llegan a ser hasta de 30 a 40 mV en microelectrodos llenos por ebullición prolongada en KCl 3 M, de ahí que al medir con ellos potenciales de reposo, la distorsión sea muy grande. La técnica consiste en llenar las porciones A y B de la Figura 15 y después expulsar manualmente, con alambres o pipetas muy delgados, la burbuja de la porción C o bien por percusión sobre ella. Una variante de este método es la ideada por Caldwell y Downing (1955-, quienes llenan la punta con KCl 3 M, por capilaridad y después el resto por el otro extremo, dejándose que difunda el agua por las paredes, lo cual ocurre en unas 40 a 60 h. Después se cambia el agua por KCl 3 M y en pocas horas se equilibra la concentración.

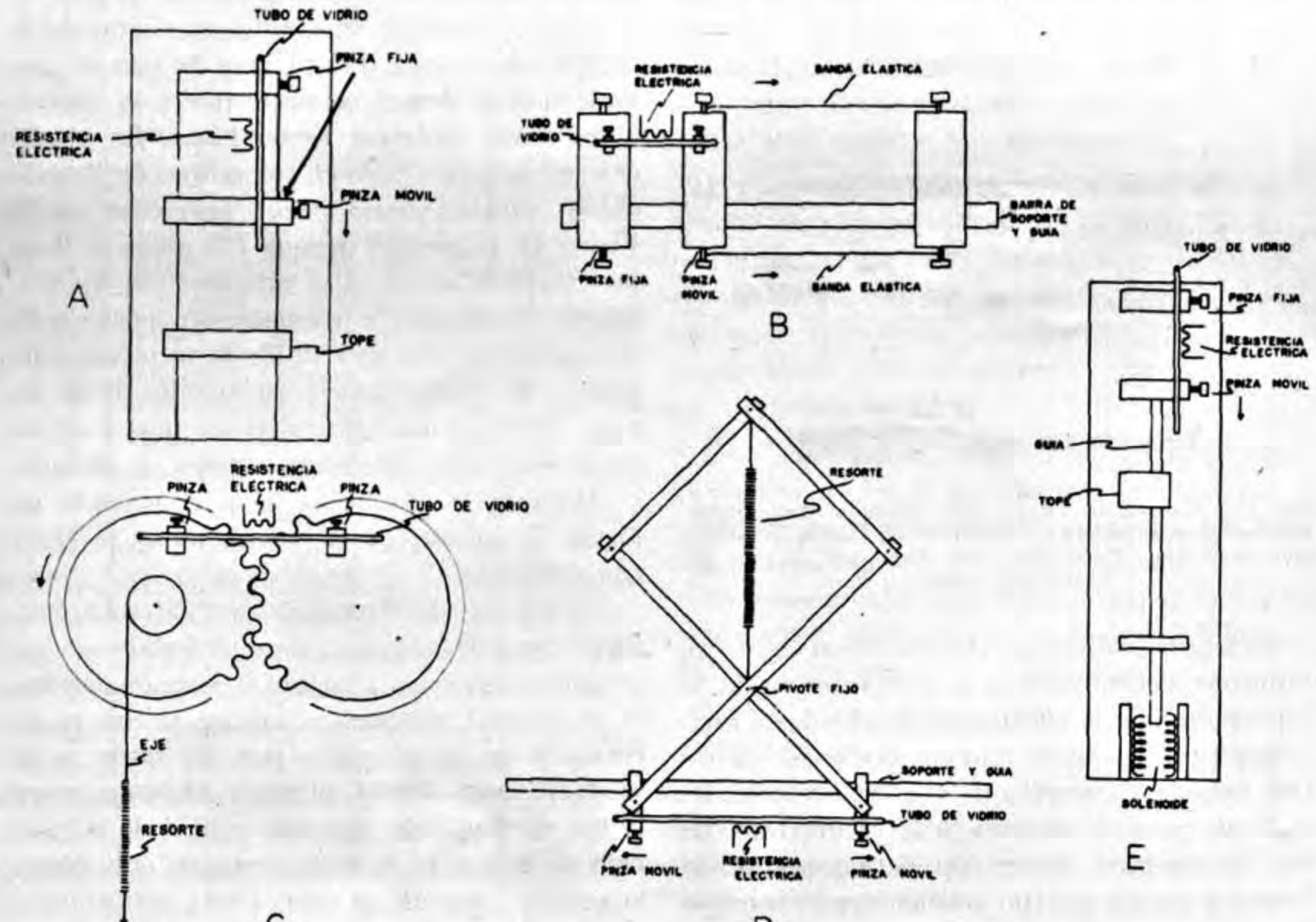


Fig. 14.—Diversos aparatos para estirar micropipetas. En todos el calentamiento se hace por medio de una resistencia eléctrica; en A—La tracción es manual, en B—es por la tensión de una banda de caucho, en C—se aprovecha la fuerza de gravedad, en D—la tensión de un resorte y en E—la fuerza de un electroimán. Obsérvese que en todos existe una barra de soporte y guía.

ch) *Método de Kao (1954).*—Consiste en llenar el tubo con KCl 3 M antes de estirarlo, y mantenerlo durante el estiramiento con sus extremos sumergidos en sendos recipientes llenos con la misma solución, como puede apreciarse

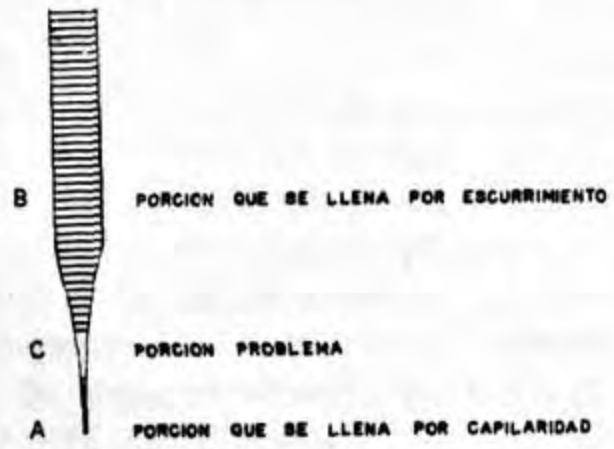


Fig. 15.—Esquema de una micropipeta ilustrando el problema de llenado de la porción media que no alcanza a llenarse por capilaridad ni por presión manual.

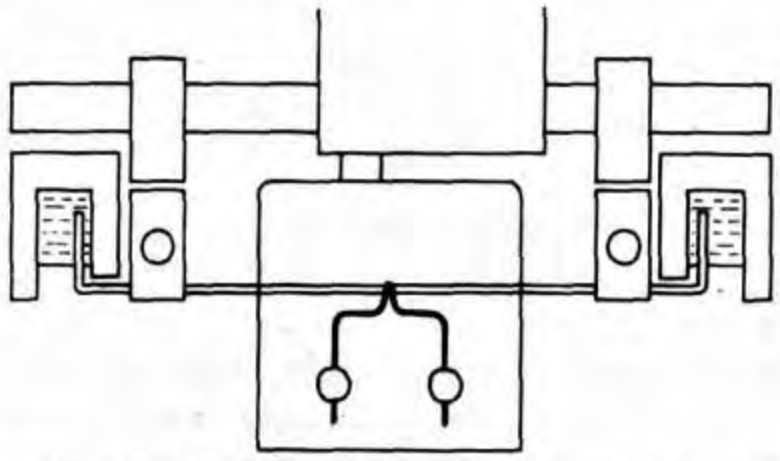


Fig. 16.—Método de Kao para llenar micropipetas (véase descripción en el texto).

en la Figura 16. Al calentarse la porción del tubo cercana a la resistencia, la expansión térmica expele el líquido hacia los recipientes; luego el vidrio se reblandece, cede a la tensión ejercida por la fuerza de gravedad, la temperatura disminuye al alejarse de la resistencia y regresa el líquido. Sin embargo, el 40% de las micropipetas quedan con burbujas en el tallo delgado o en la punta, que desaparecen en pocos días.

Una variante de este método es la ideada por Crain (1956), conservando lo fundamental.

d) *Llenado de micropipetas concéntricas.*

I. En el tipo de micropipetas concéntricas o "en lápicero" (Fig. 17 A) la técnica de llenado es análoga a lo ya descrito, pues la pipeta interna, con diámetro de 1 μ o menos en la punta se llena por cualquiera de los métodos anteriores, en tanto que la pipeta exterior, cuyo diámetro es de 10 μ, puede ser llenada manualmente.

II. En el tipo múltiple de pipetas (Fig. 17),

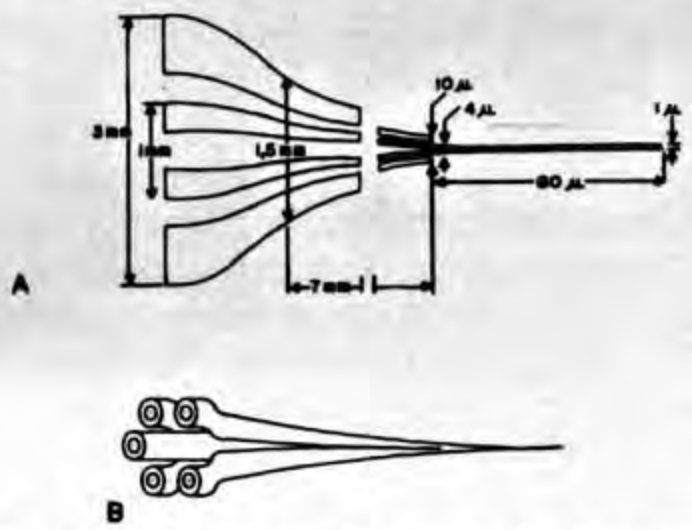


Fig. 17.—Pipetas múltiples A—sistema de dos micropipetas concéntricas, tipo tomita, B—sistema de micropipetas múltiples alrededor de una central.

cuya aplicación principal es como ya se indicó, para hacer llegar a las estructuras en estudio, diversas sustancias cuya actividad se desea probar; el procedimiento que suele seguir es, con algunas variantes, el de Curtis y Eccles (1958), que consiste en llenar inicialmente las pipetas por ebullición en agua destilada o en alcohol, que luego se extraen por aspiración a través de un fino tubo de polietileno y se sustituyen por la solución activa, dejándose para difusión unas 48 h. En el caso de sustancias que se inactivan rápidamente, se ha recurrido a guardar las micropipetas en el refrigerador a 5° (succinilcolina) o a centrifugar durante 20 min a 1 200-1 400 y, a 20°, como hicieron von Baumgarten y col. (1963), para aplicación iontoforética de adrenalina (que se oxida rápidamente) y con esta técnica logran que la pipeta esté con condiciones de usarse 30 min después de preparada la solución.

Localización de microelectrodos

Desde las primeras aplicaciones de la técnica de microelectrodos al estudio del sistema nervioso, resultó necesario precisar el lugar de registro. El problema, evidentemente es mucho mayor en el caso de electrodos extracelulares por su menor poder de resolución. Las técnicas empleadas para localizar los microelectrodos son las siguientes:

A. *Localización del trayecto del electrodo por la lesión producida.*—Esta técnica, empleada por Lorente de Nó (1952) en su análisis de la distribución de potencial en el núcleo oculomotor, combina la localización del trayecto seguido por el microelectrodo, con la reconstrucción histológica de la región. Obviamente, su utilidad es grande, pero también lo es su dificultad.

B. *Localización del lugar de registro mediante lesión.*—En esta técnica, se pasa una corriente continua por el electrodo de registro, con tales parámetros que produzca lesión, y ulteriormente se identifica la zona alterada.

C. *Tinción por colorantes electrolíticos.*—Se combina la aplicación de corriente por el microelectrodo con la introducción al tejido de alguna sustancia de naturaleza tal que reaccione con los iones que se desprenden del microelectrodo formando un compuesto colorido e insoluble. La reacción más frecuentemente utilizada es la siguiente:

$Fe^{++} + K\ CN \rightarrow FeKCN$, que es el azul Prusia, de cuyo color se impregna la región donde estuvo la punta del electrodo.

CH. *Visualización directa del lugar de registro.*—Esta técnica se aproxima a las condiciones ideales, ya que a diferencia de las anteriores, que sólo permiten la apreciación "a posteriori" del sitio de registro, con ésta es posible hacerlo durante el experimento. Las estructuras a las que se ha aplicado son el ganglio raquídeo de rana (Svaetichin, 1951) [Katsuki y col., 1961] diversos ganglios de moluscos, como *Onchidium verrucosum* (Katsuki y col., 1961-; *Aplysia* que por el gran tamaño de sus células, permite la localización individual de varias de ellas (Strum wasser, 1967).

El inconveniente es su escaso margen de aplicación a los tejidos, ya que requiere condiciones de transparencia, tamaño y simplicidad histológica, que imposibilitan su empleo en el sistema nervioso central. Por otra parte, no se recogen con ella datos sobre la trama histológica en relación al microelectrodo.

En la práctica, es común que la identificación del sitio del microelectrodo, se haga en función del tipo de actividad que recoge, dadas las características histológicas de la región en estudio.

Comentarios finales

En la introducción de este trabajo fueron mencionadas las razones que llevaron a la creación de las técnicas de registro con microelectrodos. Ha pasado ya más de un cuarto de siglo desde los primeros trabajos a base de microelectrodos metálicos, y más de cuatro lustros desde los primeros registros con micropipetas, y es de tal manera abundante la producción a que ambas técnicas han dado lugar, que no resulta prematuro intentar una evaluación de sus logros y un análisis de sus perspectivas en la Fisiología.

La revisión que se presenta, al igual que el resto del trabajo, no pretende cubrir todo el tema, sino sólo señalar los capítulos de la Fisiología en los que ha sido fundamental la técnica en cuestión, y sólo se citarán los trabajos de revisión y los que, por su importancia intrínseca o su prioridad, pueda considerarse que han abierto nuevas rutas de investigación o que han aclarado antiguos problemas.

A. *Excitabilidad.*

Dada la naturaleza eléctrica de los procesos excitatorios, este capítulo de la Fisiología, ha recibido de manera particular los beneficios de la técnica de microelectrodos y en algunos aspectos, puede afirmarse que ésta ha resultado insustituible.

1) Medida de los potenciales de reposo y de acción; que fue el primer objetivo al que se aplicó el registro con micropipetas; para establecer comparaciones en cuanto a precisión de valores propuestos para el potencial de demarcación de las células del sartorio de rana, según las diversas técnicas empleadas.

Como puede apreciarse, considerando como valor correcto el predicho por la ecuación de Goldmann, Hodgkin y Katz, que es de 88 mv, resulta una desviación de 4,2 mv, contra 43,7 mv para el dato obtenido mediante el potencial de lesión, y hay datos para suponer que el valor de 3,8 para la concentración intracelular de Cl^- con el que se hizo el cálculo teórico del potencial de reposo es alto, y si se disminuyera a 3,0 el error se reduciría a menos de un milivoltio, o sea que la exactitud sería casi absoluta.

Magnitud del potencial de reposo (mV)	Técnica empleada	Autores
49,5	Medida de la corriente de lesión	Galeotti y Cristina (1910)
62,5	Micropipeta intracelular de 2 a 5 μ de diámetro en la punta	Graham y Gerard (1946)
78,4	Micropipeta intracelular de < 1 μ de diámetro en la punta	Ling y Gerard. (1949)
92,2	Micropipeta con < 1 μ, corrigiendo el potencial de punta	Adrian (1956)

Conviene a este respecto hacer hincapie en el hecho de que fue el registro simultáneo de las magnitudes del potencial de reposo y del potencial de acción lo que puso de manifiesto la inversión del primero en el ápice de la espiga, demostrada por Hodgkin y Huxley (1939) y Curtis y Cole (1942), con lo cual quedó planteado el problema que llevó a la hipótesis del sodio, que actualmente cuenta con tantos hechos en su favor, que parece haber alcanzado un lugar definitivo. Tanto la hipótesis del origen del potencial de acción como la del potencial de reposo son por ahora dos temas de avanzada de la biología cuantitativa y con ellas y otras hipótesis que se revisarán luego, la Fisiología cobra dimensiones de ciencia exacta. Sin embargo, quedan aún muchas lagunas en nuestro conocimiento acerca de la naturaleza de los procesos excitatorios, y la exactitud de los resultados obtenidos hasta ahora ha enmascarado algunas de las limitaciones del método. Por ello son especialmente valiosos los ensayos críticos, como el recientemente publicado por Tasaki y Singer (1968).

B. *Organización y funciones del sistema nervioso*

Es en este capítulo donde mayor número de trabajos se producen a base de microelectrodos y en virtud de la gran diversidad de los datos

disponibles, serán agrupados de la siguiente manera:

1) *Organización aferente.*—El análisis de los procesos excitatorios en los receptores sensoriales, iniciado con datos indirectos por Adrian y col. (1928) mediante las técnicas que se mencionaron en la primera parte, recibió impulso considerable con los datos de estudios directos, mediante microelectrodos, de las células receptoras; así, el registro de la actividad eléctrica de las células ciliadas de la cóclea (von Bekesy, 1952) de los receptores visuales de *Limulus* (Hartline y col., 1952), de los receptores olfatorios (Ottoson, 1956) y de los tensorreceptores musculares del acocil, (Eyzaguirre y Kuffler, 1956- entre otros, abrieron el camino al estudio de los fenómenos de traducción de energía y generación de impulsos en los receptores sensoriales.

El registro de la distribución de los impulsos aferentes somáticos en las neuronas de la corteza sensitiva efectuado por Amassian (1953), así como el de los impulsos tactiles en el tálamo, realizado por Rose y Mountcastle (1954) han propiciado grandemente el desarrollo de los conceptos sobre la organización de las vías sensoriales y en la actualidad, todas ellas han sido estudiadas con microelectrodos. En este mismo capítulo puede quedar comprendida la identificación de elementos osmosensibles, termosensibles, mecanosensibles y quimiosensibles en el sistema nervioso central.

2) *Análisis de señales eléctricas en el sistema nervioso central.*—La intrincada trama de fibras en el sistema nervioso central, ese "mágico telar" de que hablara Sherrington, fue el último obstáculo que hubo de salvar la Teoría Celular, que Cajal aplicó exitosamente en su Teoría Neuronal; ésta permitió establecer una serie de predicciones sobre el sentido y la distribución de las corrientes en las ramificaciones neuronales, que sólo fue posible someter a la prueba experimental cuando se dispuso de elementos de registro con capacidad de resolución equivalente a la del microscopio óptico; es en este campo donde los microelectrodos han rendido sus mejores frutos. Los estudios de Lorente de Nó (1939) en los núcleos del motor ocular común y del hipogloso. Los de Renshaw y col. (1940) en el hipocampo, y los de Eccles y col. (Brooks y Eccles, 1947; Barakan, Downman y Eccles, 1949) en las motoneuronas medulares, hasta culminar en el de Brock, Coombs y Eccles (1952) quienes aplicaron por vez primera la técnica de registro intracelular con micropipetas, al estudio de las motoneuronas medulares, abriendo un campo inmenso de investigación, que pronto se ha venido poblando de hechos, que en la actualidad constituyen uno de los más firmes soportes de la neurofisiología.

3) *Organización periférica del sistema motor.*—Desde los estudios de Adrián y Bronck (1927) se sabía que la magnitud de la contracción de un músculo esquelético depende de la frecuencia de los impulsos en su nervio motor. Por otra parte, desde los clásicos estudios de Claude Bernard, se tenían las pruebas fisiológicas de la existencia de la placa motriz; sin embargo, el paso de la excitación del nervio al músculo, sólo ha sido aclarado al correlacionarse la actividad eléctrica de ambas estructuras, a nivel de la placa. Esto fue realizado por Fatt y Katz (1951) quienes registraron el potencial de placa. Esto fue realizado por Fatt y Katz (1951) así, en los últimos diez años han aparecido importantes obras de conjunto sobre los procesos excitatorios en las neuronas (Eccles, 1957); las propiedades de la sinapsis (Eccles, 1964) y la organización funcional de diversas regiones del sistema nervioso central, como son la médula espinal (Eccles y Schade, 1964 a y 1964 b) y el cerebelo (Eccles, Ito y Szentagothai, 1967). Todas ellas basadas en estudios con microelectrodos. Han aparecido asimismo, numerosos estudios parcelares de distintas áreas del neuroeje.

Problemas antiguos, como el origen de los complejos eléctricos repistrados con macroelectrodos, son ahora accesibles al análisis unitario, aunado a técnicas de computación y tratamiento estadístico (Fox y O'Brien, 1965, Fox y Norman, 1968).

3.—*Transmisión neuromuscular.*—Uno de los primeros frutos del registro intracelular con microelectrodos fue la demostración del potencial lento en la membrana muscular postsináptica (Fatt y Katz, 1951). Las propiedades de este potencial de placa, han sido de gran valor en el análisis de la transmisión neuromuscular, esquelética, así, Del Castillo y Katz (1955) comprobaron por este medio, la sensibilidad exquisita a la acetilcolina en la región correspondiente a la placa y ulteriormente se han estudiado los mecanismos iónicos de la acción del mediador químico, los aspectos cuantitativos de su liberación (Katz, 1967) y aun aspectos plásticos de la dinámica neuromuscular (Miledi, 1960, Thesleff, 1960). Con criterio y técnica análogos, se han investigado otras sinapsis neuromuscu-

lares, tanto excitatorias como nihibitorias. Las características de la transmisión neuromuscular y la excitación en estructuras como el miocardio, constituyen capítulos voluminosos (Woodbury, 1962).

4.—*Otras funciones del sistema nervioso.* La posibilidad de registrar continuamente, durante periodos prolongados la actividad unitaria, ha sido utilizada para profundizar el análisis de las bases neuronales de las llamadas funciones superiores del sistema nervioso. Así, se ha estudiado la actividad, durante la adquisición de reflejos condicionados, de neuronas en la corteza cerebral (Jasper, Ricci y Doane, 1960) y en el tálamo (Kamikawa, Mc Ilwain y Adey, 1964). La habituación también ha sido estudiada en diversos niveles neurales (Bell, Sierra, Buendía y Segundo, 1964, Horn y Hill, 1964, Buchwald, Halas y Schramm, 1965). Los ritmos de sueño y vigilia hace ya varios años que son objeto de análisis con microelectrodos (Evarts, 1961), y aun lo son, ritmos más prolongados, como las variaciones periódicas de sensibilidad a la luz en neuronas en cultivo (Strumwasser, 1967).

Funciones complejas como las que intervienen en la organización de patrones conductuales, recién empiezan a ser analizadas a nivel unitario (Adams, 1968). Las funciones tróficas del sistema nervioso también se encuentran en estudio con la técnica que nos ocupa (Kandel y Spencer, 1968) y aun las estructuras no neuronales del sistema nervioso han resultado susceptibles a la investigación mediante microelectrodos (De Robertis y Carrea, 1965).

En fin, aunque mucho se ha avanzado en neurofisiología mediante la técnica en cuestión, grandes son aún sus posibilidades. Las técnicas de macroelectrodos permitieron estudiar las peculiaridades de acúmulos neuronales y con ellas se sustentó el criterio de la existencia de "centros" especializados en la integración de funciones específicas; cumple ahora a los microelectrodos penetrar en esos acúmulos y allegar al fisiólogo los datos necesarios sobre las propiedades de las neuronas que los constituyen, y la dinámica de sus conexiones. Problemas tan actuales como el análisis de las claves de comunicación entre las diversas regiones del sistema nervioso, sólo pueden resolverse con un conocimiento preciso de la clave unitaria. El estudio de la sensibilidad diferencial de neuronas a los distintos mediadores químicos y sustancias relacionadas con ellos está abriendo nuevos horizontes a la neurofarmacología. En suma, puede afirmarse que la técnica de microelectrodos en el estudio del sistema nervioso está en pleno auge; sin embargo, la euforia inherente a los espectaculares logros que ha permitido, no debe desviar el criterio sobre su papel real en el desarrollo de la neurofisiología contemporánea. Y finalmente si bien la actividad eléctrica es importante en un sistema en el que la conducción es una de las propiedades más relevantes, no es la única manifestación del funcionamiento celular.

C. *Otras aplicaciones de los microelectrodos.*

Los microelectrodos han resultado útiles en otros campos; así, el intercambio de iones en el túbulo renal, (Windhager y Giebisch, 1965). La permeabilidad en células glandulares (Loewenstein y Kano, 1964) y la naturaleza del acoplamiento entre células vecinales en diversas estructuras (Loewenstein, 1967). Las propiedades eléctricas de la membrana nuclear sólo han podido ser conocidas con esta técnica (Loewenstein y Kano, 1963). La luminiscencia en protozoarios (Eckert, 1967), y el estudio de la actividad eléctrica en células vegetales está cobrando gran impulso (Scott, 1967).

Se han utilizado los microelectrotos como captadores de oxígeno y de pH (Donaldson, 1958), o de ciertos iones, como el cloro intracelular (Kerkut y Meech, 1966). Todo ello en el marco impuesto a esta revisión, al registro de fenómenos biológicos.

Bibliografía

1. Adams, D., Cells related to fighting behavior recorded from midbrain central gray neuropil of cat. *Science*, **159**: 894-896, 1968.

2. Adrian, E. D., The basis of sensation. Christophers., Londres, 1928.

3. Adrian, E. D. y D. W. Bronk, The discharge of impulses in motor nerve fibres. Pt. I. Impulses in single fibres of the phrenic nerve. *J. Physiol.*, **66**: 81-101, 1928.

4. Adrian, E. D., M. Catell y H. Hoagland, Sensory discharges in single cutaneous nerve fibres. *J. Physiol.*, **72**: 377-391, 1931.

5. Adrian, E. D. y K. Umrath, The impulse discharge from the pacinian corpuscle. *J. Physiol.*, **68**: 139-154, 1929.

6. Adrian, E. D. y Y. Zotterman, The impulses produced by sensory nerve-endings. Part 2. The response of a single and organ. *J. Physiol.*, **61**: 151-171, 1926.

7. Adrian, R. H., The effect of internal and external potassium concentration on the membrane potential of frog muscle. *J. Physiol.*, **133**: 631-658, 1956.

8. Alexander, J. T. y W. L. Nastuk, An instrument for the production of microelectrodes used in electrophysiological studies. *Rev. Sc. Instr.*, **24**: 528-530, 1953.

9. AMASSIAN, V. E., Evoked single cortical unit activity in the somatic sensory areas. *Electroenceph. Clin. Neurophys.*, **5**: 415-438, 1953.

10. BARAKAN, TH. H., C. B. B. DOWNMAN y J. C. ECCLES, Electric potentials generated by antidromic volleys in quadriceps and hamstring motoneurones. *J. Neurophysiol.*, **12**: 393-424, 1949.

11. BARCROFT, J., Features in the architecture of physiological function. Cambridge University Press, 1934.

12. BAUMGARTEN, R. VON, F. E. BLOOM, A. P. OLIVER y G. C. SALMOIRAGHI, Response of individual olfactory nerve cells to microelectrophoretically administered chemical substances. *Pflüg. Arch. Ges. Phy.*, **277**: 125, 1963.

13. BEKESY, G. VON, DC resting potentials inside the cochlear partition. *J. Acoust. Soc. Amer.*, **24**: 72-76, 1952.

14. BISHOP, P. O. y R. COLLIN, Steel microelectrodes. *J. Physiol.*, **112**: 8-10P, 1951.

15. BOWDITCH, *Ber. Sachs. Ges.*, **23**: 652, 1871 (Citado por Barcroft).

16. BROCK, L. G., J. S. COOMBS y J. C. ECCLES, The recording of potentials from motor neurones with an intracellular electrode. *J. Physiol.*, **117**: 431-460, 1952.

17. BROOKS, MC. C. y J. C. ECCLES, Electrical investigations of the monosynaptic pathway through the spinal cord. *J. Neurophysiol.*, **10**: 251-274, 1947.

18. BUCHWALD, J. S., E. S. HALAS y S. SCHRAMM, Progressive changes in efferent unit responses to repeated cutaneous stimulation in spinal cats. *J. Neurophysiol.*, **28**: 200-215, 1965.

19. BULTITUDE, K. H., A technique for marking the site of recording with capillary microelectrodes. *Quart. J. Micr. Sc.*, **99**: 61-63, 1958.

20. CALDWELL, P. C. y A. C. DOWNING, The preparation of microelectrodes. *J. Physiol.*, **128**: 31P, 1955.

21. CRAIN, S. M., Resting and action potentials of cultured chick embryo spinal ganglion cells. *J. Comp. Neurol.*, **104**: 285-330, 1956.

22. CURTIS, D., Microelectrophoresis, en Physical Techniques in Biological Research, Ed. W. L. Nastuk, Academic Press., Nueva York, 1964, V, pte. A. vol.

23. CURTIS, H. J. y K. S. COLE, Membrane resting and action potentials in giant fibres of squid nerve. *J. Cell. Comp. Physiol.*, **19**: 135-144, 1942.

24. CURTIS, D. R. y R. M. ECCLES, The excitation of Renshaw cells by pharmacological agents applied electrophoretically. *J. Physiol.*, **141**: 435-445, 1958.

25. DE ROBERTIS, E. D. P. y R. CARREA (eds.), Biology of neuroglia. Elsevier. Amsterdam, 1965.

26. DEL CASTILLO, J. y B. KATZ, On the localization of acetylcholine receptors. *J. Physiol.*, **128**: 157-181, 1955.

27. DONALDSON, P., Electronic aparatus for biological research. Academic Press. pp. 576-581, Nueva York, 1958.

28. DOWBEN, R. M. y J. E. ROSE, A metal filled microelectrode. *Science*, **118**: 22-24, 1953.

29. ECCLES, J. C., The physiology of nerve cells. The Johns Hopkins Press, 1957.

30. ECCLES, J. C., The physiology of synapses. Springer-Verlag. Berlín, 1964.

31. ECCLES, J. C. y J. P. SCHADE (eds.), Organization of the spinal cord. Elsevier. Amsterdam, 1964*a*.

32. ECCLES, J. C. y J. P. SCHADE (eds.), Physiology of spinal neurons. Elsevier. Amsterdam, 1964*b*.

33. ECCLES, J. C., M. ITO y J. SZENTAGOTHAI, The cerebellum as a neuronal machine. Springer Berlín, 1967.

34. ECCLES, R. M., Intracellular potential recorded from a mammalian sympathetic ganglion. *J. Physiol.*, **130**: 572-584, 1955.

35. ECKERT, R. y G. T. REYNOLDS, The subcellular origin of bioluminiscence in Noctiluca miliaris. *J. Gen. Physiol.*, **50**: 1429-1458, 1967.

36. EVARTS, E. V., Effects of sleep and waking on activity of single units in the unrestrained cat. En The Nature of Sleep, Ciba Symposium, pp. 171-187. Churchill, Londres, 1961.

37. EYZAGUIRRE, C. y S. KUFFLER, Processes of excitation in the dendrites and in the soma of single isolated sensory nerve cells of the lobster and the crayfish. *J. Gen. Physiol.*, **87**: 119, 1956.

38. FATT, P. y B. KATZ, An analysis of the end plate potentials recorded with an intracellular electrode. *J. Physiol.*, **115**: 320-370, 1951.

39. FOX, S. S. y R. J. NORMAN, Functional congruence, An index neural homogeneity and a new measure of brain activity. *Science*, **159**: 1257-1259, 1968.

40. FOX, S. S. y J. O'BRIEN, Duplication of evoked potential waveform by curve of probability of firing of a single cell. *Science*, **147**: 888-890, 1965.

41. FRANK, K., Single unit analysis, en Handbook of Physiology, J. Field Ed., *Amer. Physiol. Soc.*, Sec. I, Vol. I, 1959.

42. FRANK, K. y M. C. BECKER, Microelectrodes for recording and stimulation en Physical Techniques in Biological Research. W. L. Nastuk ed. *Academic Press*. Vol. V, pte. A. Nueva York, 1964.

43. FREYGANG, W. H. Jr., An analysis of extracellular potentials from single neurons in the lateral geniculate nucleus of the cat. *J. Gen. Physiol.*, **41**: 543-564, 1958.

44. GELFAN, S., A non-polarizable microelectrode. Preliminary report. *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.*, **23**: 308-309, 1925.

45. GELFAN, S., Studies of single muscle fibres, I. The All or None principle. *Am. J. Phy.*, **93**: 1-8, 1930.

46. GESTELAND, R., C. HOWLAND, J. Y. LETTVIN y W. H. PITTS., Comments on microelectrodes. *Proc. I R. E.*, **47**: 1856-1862, 1959.

47. GRAHAM, J. y R. W. GERARD, Membrane potentials and excitation of impaled single muscle fibers. *J. Cell. Comp. Physiol.*, **28**: 99-117, 1946.

48. GRUNDSFEST, H., Instrument requirements and specifications in bioelectric recording. *Ann. N. Y. Acad. Sc.*, **60**: 841-859, 1955.

49. GRUNDFEST, H., R. W. SENGSTAKEN, W. H. OETTINGEN y R. W. GURRY, Stainless steel microneedle electrodes made by electrolytie pointing. *Rev. Sc. Instr.*, **21**: 360-363, 1950.

50. HARTLINE, H. K., H. G. WAGNER y E. F. MAC NICHOL, The peripheral origin of nervous activity in the visual system. *Cold. Spr. Harb. Symp. Quant. Biol.*, **17**: 125-141, 1952.

51. HEILBRUNN, L. V., Fisiologia General, Versión castellana por J. J. Izquierdo y J. García Ramos. Imprenta de la Universidad de México, 1946.

52. HÖBER, R., Physical chemistry of cells and tissues. Blackiston. Filadelfia, 1945.

53. HODGKIN, A. L. y B. KATZ, The effects of sodium ions on the electrical activity of the giant axon of the squid. *J. Physiol.*, **108**: 37-77, 1949.

54. HODGKIN, A. L. y A. F. HUXLEY, Action potentials recorded from inside a nerve fibre. *Nature*, **144**: 710-711, 1939.

55. HORN, G. y R. M. HILL, Habituation of the response to sensory stimuli of neurones in the brain stem of rabbits. *Nature*, **202**: 296-298, 1964.

56. HUBEL, D. H., Tungsten microelectrode for recording from single units. *Science*, **125**: 549-550, 1957.

57. JASPER, H. H., G. RICCI y B. DOANNE, Microelectrode analysis of cortical cell discharge during avoidance conditioning in the monkey. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* (Suppl.) **13**: 137-155, 1960.

58. KAMIKAWA, K., J. T. MCILWAIN y W. R. ADEY, Response patterns of thalamic neurons during classical conditioning. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, **17**: 485-496, 1964.

59. KANDEL, E. R. y W. A. SPENCER, Cellular neurophysiological approaches in the study of learning. *Physiol. Rev.*, **48**: 65-135, 1968.

60. KAO, C. Y., A method of making prefilled microelectrodes. *Science*, **119**: 846-847, 1954.

61. KATSUKI, Y., N. SUGA, M. NOMOTO y T. NAKATSUBO, The Dip-prism microscope, specially designed for electrophysiological use. *Proc. Jap. Acad.*, **37**: 588, 1961.

62. LEVINE, L., Tip potentials in microelectrodes filled by boiling under reduced pressure. *Experientia*, **22**: 559-560, 1966.

63. LI, C. y H. H. JASPER, Microelectrode studies of the electrical activity of the cerebral cortex in the cat. *J. Physiol.*, **121**: 117,140, 1953.

64. LING, G. y R. W. GERARD, The normal membrane potential of frog sartorius fibres. *J. Cell. Comp. Physiol.*, **34**: 383-396, 1949.

65. LOEWENSTEIN, W. R., Cell surface membranes in close contact. Role of calcium and magnesium ions *J. Colloid and Interface Science*, **25**: 34-36, 1967.

66. LOWENSTEIN, W. R. y Y. KANNO, Some electrical properties of a nuclear membrane examined with a microelectrode. *J. Gen. Physiol.*, **46**: 1123-1140, 1963.

67. LOWENSTEIN, W. R. y Y. KANNO, Studies on an epithelial (gland) cell junction. I. Modifications of surface membrane permeability. *J. Cell. Biol.*, **22**: 565-586, 1964.

68. LORENTE DE NÓ, R., Transmission of impulses through cranial motor nuclei. *J. Neurophysiol.*, **2**: 402-464, 1939.

69. LORENTE DE NÓ, R., Conduction of impulses in the neurons of the oculomotor nucleus. En The Spinal Cord, A Ciba Symposium pp. 132-173. G. E. W. Wolstenholme ed., Little Brown, Boston, 1953.

70. LUCAS, K., The All of None contraction of the amphiiban skeletal muscle fibre. *J. Physiol.*, **38**: 113-133, 1909.

71. MILEDI, R., Properties of regeneration neuromuscular synapses in the frog. *J. Physiol.*, **154**: 190, 1960.

72. MILLS, L. W., A fast inexpensive method of producing large quantities of metallic microelectrodes. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, **14**: 278-279, 1962.

73. NASTUK, W. L., The electrical activity of the muscle cell membrane at the neuromuscular junction. *J. Cell. Comp. Physiol.*, **42**: 249-272, 1953.

74. NASTUK, W. L. y A. L. HODGKIN, The electrical activity of single muscle fibres. *J. Cell. Comp. Physiol.*, **35**: 39-73, 1950.

75. OTTOSON, D., Analysis of the electrical activity of the olfactory epithelium. *Acta Physiol. Scand.*, **35**: suppl. 122, 1956.

76. *PETERFI*, T. 1928. (Citado por Svaetichin).

77. PRATT, F. H., The all or none principle in graded response of skeletal muscle. *Amer. J. Physiol.*, **44**: 517-542, 1917.

78. PRATT, F. H. y J. P. EISENBERG, The quantal phenomena in muscle: Method with further evidence of the all or none principle for the skeletal fiber. *Amer. J. Physiol.*, **49**: 1-54, 1919.

79. PURPURA, D. y M. D. YAHR, The thalamus. Columbia University Press, 1966.

80. RAMÓN y CAJAL, S., Histologíe du système nerveux de l'homme et des vertébres. Vol. I, trad. L. Azoulay. París, 1909.

81. RENSHAW, B., FORBES y B. R. MORRISON, Activity of isocortex and hippocampus. Electrical studies with microelectrdoes. *J. Neurophysiol.*, **3**: 74-1, 1910.

82. ROSE, J. E. y V. B. MOUNTCASTLE, Activity of single neurons in the tactile thalamic region of the cat in response to a transient peripheral stimulus. *Johns Hopks. Hosp. Bull.*, **94**: 238-282, 1954.

83. SCOTT, B. I. H., Electric fields in plants. *Ann. Rev. Plant. Physiol.*, **18**: 409-418, 1967.

84. SHERRINGTON, CH. S., The integrative action of the nervous system. Yale University Press, 1876.

85. STRUMWASSER, F., Types of information stored in single neurons. En Invertebrate Nervous Systems, C. A. G. Wiersma, ed. The University of Chicago Press. pp. 291-319. Chicago, 1967.

86 SVAETICHIN, G., Low resistence microelectrodes. *Acta Physiol. Scand.*, **24**: suppl. 86, 1951.

87. TAKAGI, S. F. y T. SHIBUYA, The electrical activity of the olfactory epitehlium studied with micro- and macro-electrodes. *Jap. J. Physiol.*, **10**: 385-395, 1960.

88. TASAKI, I., E. H. POLLEY y F. ORREGO, Action potentials from individual elements in cat geniculate and striate cortex. *J. Neurophysiol.*, **17**: 454-474, 1954.

89. TASAKI, I. e I. SINGER, Some problems involved in electrical measurements of biological systems. *Ann. N. Y. Acad. Sc.*, **148**: 36-53, 1968.

90. TAYLOR, C. V., Microelectrodes and micromagnets. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, **22**: 147-150, 1925.

91. THESLEFF, S., Effects of motor innervation on the chemical sensitivity of the skeletal muscle. *Physiol. Rev.*, **40**: 734-752, 1960.

92. WINDHAGER, E. E. y G. GIEBISCH, Electrophysiology of the nephron. *Physiol. Rev.*, **45**: 214-244, 1965.

93. WOLBARSHT, M. L., E. F. MACNICHOL Jr. y H. G. WAGNER, Glass insulated platinum microelectrode. *Science*, **132**: 1309-1310, 1960.

94. WOODBURY, J. W., Cellular electrophysiology of the heart, en Handbook of Physiology, *Amer. Physiol. Soc.*, Vol .1, pp. 237, 1962.

95. YANOF, H. M., Biomedical Electronics, F. A. Davis Co., Filadelfia, 1965.

96. YOUNG, J. Z., Structure of nerve fibres and synopses in some invertebrates. *Cold. Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, **4**: 1-6, 1936.

Comunicaciones originales

CONSERVACION POR CONGELAMIENTO DEL ACIDO DESOXIRRIBONUCLEICO TRANSFORMANTE DE *HAEMOPHILUS INFLUENZAE*

Introducción

La conservación por congelamiento de diferentes preparaciones biológicas, requiere su descongelación posterior antes de utilizarse. Shikama (1), basándose en datos espectrofotométricos, ha concluido que estos dos procesos no alteran la estructura de doble hélice del ácido desoxirribonucleíco (DNA) de timo. En el presente trabajo, se demostrará que la congelación y descongelación del DNA transformante purificado no altera su estructura ni afecta su actividad biológica, asimismo, no se lograron identificar mutaciones producidas "in vitro" sobre el DNA por estos tratamientos.

Parte experimental

Para la preparación de DNA y células competentes de *H. influenzae,* medios de cultivo y otras técnicas de laboratorio, se siguieron las indicaciones de Goodgal y Herriott (2). El DNA nativo se extrajo de una cepa de *H. influenzae* resistente a 25 μg de novobiocina (catomicina) por ml, el cual será denominado C_{25}DNA. El DNA obtenido de la cepa de *H. influenzae* resistente a 250 μg de estreptomicina por ml, será designado Sm_{250}DNA (Este marcador genético es el denominado Sm ó $Sm^{2\,000}$ por Hsu y Herriott (3), y fue empleado por primera vez por Alexander y Leidy (4). El DNA desnaturalizado se preparó disolviendo el DNA nativo en una mezcla de regulador de fosfatos 0,05 mM y cloruro de sodio 0,05 M a pH 7,0, en seguida se calentó a 96° durante 5 min y se enfrió bruscamente en hielo de agua; la concentración del DNA durante este tratamiento fue de 30 μg/ml. Después de tratar experimentalmente el DNA desnaturalizado, se renaturalizó elevando la concentración de cloruro de sodio a 0,3M, después se calentó 1 h a 65° y finalmente se dejó enfriar en forma lenta hasta 30° (este enfriamiento requiere 2 h aprox.). Con objeto de congelar el DNA nativo, se diluyó a una concentración a 10 μg/ml, en una mezcla de regulador de fosfatos 0,5 mM y cloruro de sodio 0,15M, posteriormente se distribuyeron muestras de 3 ml en tubos para ensayo y se congelaron a –70° en un baño de hielo seco. Las muestras estuvieron congeladas a los 5 min y se les mantuvo así otros 10 min. Enseguida las muestras se descongelaron bruscamente en un baño cuya temperatura osciló de 23 a 26°, este proceso tardó 3 min. Las muestras testigo no congeladas se conservaron a 3°. Al congelar y descongelar el DNA desnaturalizado, estuvo disuelto en una mezcla de regulador de fosfatos 0,05 mM y cloruro de sodio 0,015 M a pH 7,0. En algunos casos, la descongelación fue lenta, para lo cual se llevaron las muestras congeladas a 3° hasta que fundieron, lo cual necesitó alrededor de 3 h. El procedimiento de transformacién genética fue el usual para el sistema de *Haemophilus* (2). Con objeto de buscar nuevos marcadores transformantes y marcadores genéticos letales en el DNA después de ser congelado y descongelado, se usó el método de Cabrera-Juárez y Herriott (3). Si el DNA tratado presentaba algunos marcadores letales, debería haber diferencia significativa en la cuenta viable entre las mucosas tratadas con o sin DNA. Si el DNA congelado y descongelado contenía alguno (s) de los nuevos marcadores genéticos investigados, debería aumentar el número de células resistentes en relacióna los controles con DNA testigo o sin DNA; es decir, la frecuencia de mutación debería ser mayor. El espectro de absorción de los DNAs fue determinado entre 210 a 300 mμ utilizando un espectrofotómetro Zeiss PMQII.

Resultados

La congelación y descongelación del C_{25}DNA o Sm_{250}DNA (30 μg/ml), no cambió su espectro de absorción en comparación con el DNA no tratado. La actividad transformante tampoco cambió y no hubo formación de nuevos marcadores genéticos, ya que el número de células resistentes a 40 μg de estreptomicina por ml fue similar tanto en las muestras testigo como en las tratadas con DNA problema. Al congelar y descongelar Sm_{250}DNA a concentraciones de 1,5,10, 20,30,40,50 ó 60 μg/ml, tampoco se modificó la actividad transformante y no hubo diferencia entre los espectros de absorción de los controles y las muestras tratadas. Al congelar C_{25}DNA durante diferentes intervalos, se encontró que 192 h de estar congelado (máximo tiempo que se estudió), no alteraron su espectro de absorción, la actividad transformante se mantuvo constante y no hubo formación de nuevos marcadores gené-

ticos. En la misma forma, la cuenta viable de las células recipientes no cambió, sugiriendo la falta de marcadores genéticos letales. En todos los experimentos descritos anteriormente, la descongelación fue rápida. El espectro de absorción de una muestra descongelada lentamente fue

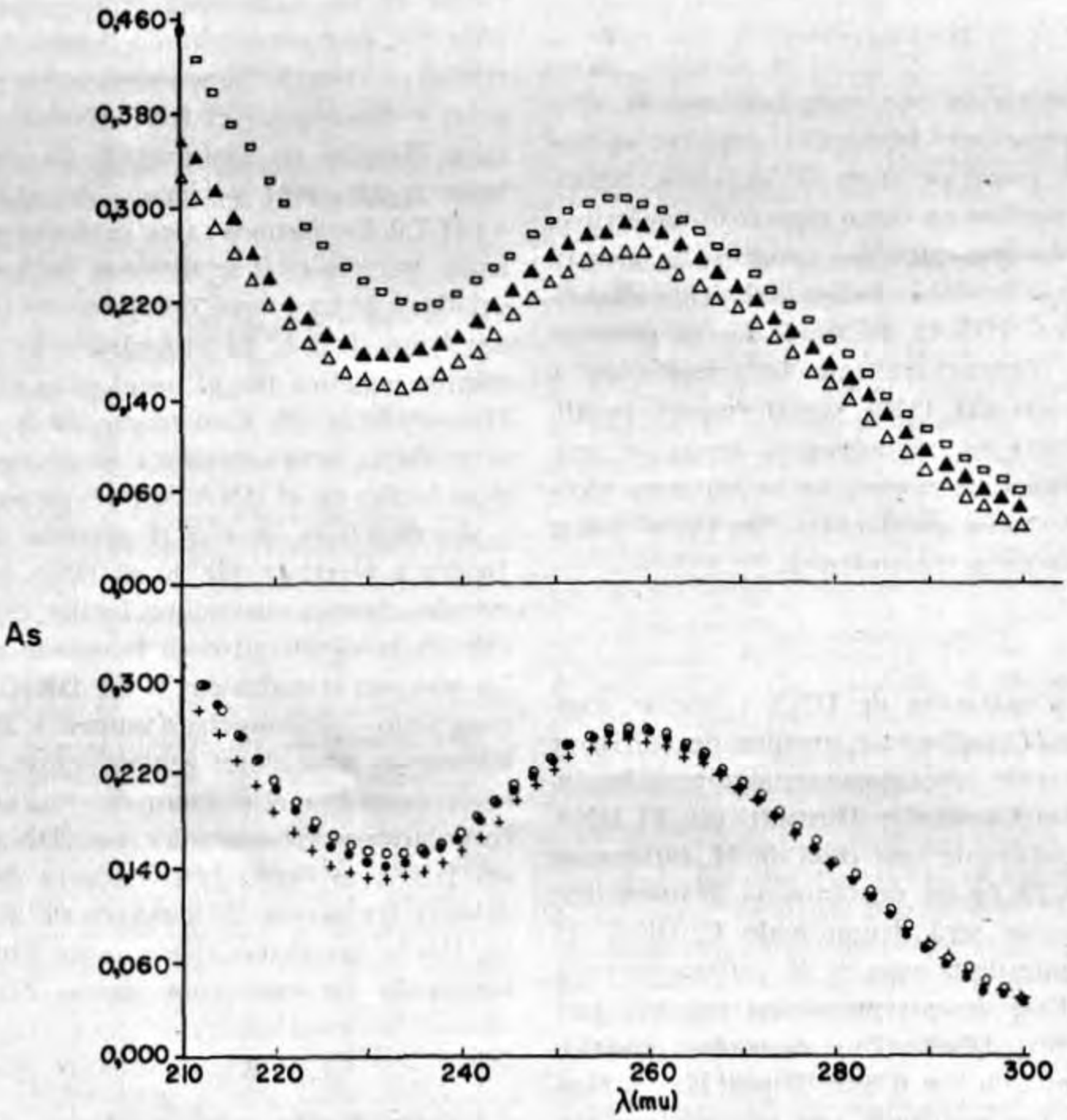


Fig. 1.—Espectro de absorción de Sm_{20} DNA congelado y descongelado varias veces. (•), sin congelar; (o) congelado y descongelado 1, (+) 2, (Δ) 3, (Δ) 4 y ([]) 5 veces.Cada vez las muestras se mantuvieron congeladas 30 min.

el mismo que el de una muestra descongelada rápidamente o no tratada. La actividad transformante tampoco fue afectada por la descongelación lenta y no hubo formación de marcadores genéticos nuevos o letales en estas condiciones. Más tarde, fue de interés conocer el efecto de varias congelaciones y descongelaciones sucesivas. En la Figura 1, puede apreciarse que tres congelaciones y descongelaciones no cambiaron el espectro de absorción, pero 4 tratamientos causaron ligero efecto hipercrómico, el cual fue mayor en la muestra tratada 5 veces. A pesar de este efecto hipercrómico, la actividad transformante no cambió y no hubo formación de nuevos marcadores genéticos (Tabla I). Cuando se observó que la congelación y descongelación no causó cambios en el DNA nativo, fue de importancia conocer su acción sobre DNA desnaturalizado por el calor. La actividad transformante residual de C_{25}DNA desnaturalizado por el calor, no fue modificada por el proceso de congelación y descongelación y este tratamiento no dio lugar a la formación de nuevos marcadores genéticos (Tabla II). La renaturalización del DNA desnaturalizado tampoco fue afectada, ya que como se puede observar en la Tabla II, la actividad transformante de la muestra renaturalizada a partir del DNA desnaturalizado, congelado y descongelado, fue la misma a la del renaturalizado a partir del DNA desnaturalizado testigo. Asimismo, se puede observar (Tabla II), que el DNA renaturalizado de ambas fuentes no formó nuevos marcadores genéticos. La congelación y descongelación del DNA desnaturalizado por el calor produjo cierto efecto hipercrómico en comparación con el DNA desnaturalizado no

tratado (Fig. 2), pero después de la renaturalización los espectros de absorción fueron iguales. Es posible, que la hipercromicidad producida por congelación y descongelación del DNA desnaturalizado por el calor, sea debida a una mejor separación de los filamentos del DNA, los cuales habían sido parcialmente separados por calentamiento y enfriamiento brusco.

observó efecto hipercrómico al congelar y descongelar por una vez el DNA de timo; esta observación es similar a la encontrada en nuestro caso con el DNA transformante de *H. influenzae*. Sin embargo, cuando el DNA nativo de *H. influenzae* fue congelado y descongelado 4 ó 5 veces consecutivas, se presentó un ligero efecto hipercrómico, que no fue acompañado de disminución en actividad transformante. Es posible que esto se deba a la desnaturalización de DNA parcialmente desnaturalizado durante el aislamiento y purificación del mismo, aunque también puede pensarse que se deba a cierta desnaturalización localizada del DNA nativo, la cual no produjo cambio en la actividad transformante.

TABLA I

EFECTO DE VARIAS CONGELACIONES Y DESCONGELACIONES SUCESIVAS SOBRE Sm_{250}DNA

Muestra (veces de congelación y descongelación)	Actividad transformante (x 10^6 transformantes resistentes a 250 µg de estreptomicina por ml µg DNA)	Nuevas marcas (x 10^4 mutantes resistentes a 30 µg de kanamicina/ml de mezcla)
DNA sin congelar	0,99	0,52
1	1,00	0,50
2	0,99	0,43
3	1,11	0,50
4	0,82	0,45
5	0,96	0,68
sin DNA	0	0,40

Tiempo de congelación: 30 minutos.

TABLA II

CONGELACIÓN Y DESCONGELACIÓN DE C_{25}DNA DESNATURALIZADO POR EL CALOR

Muestra	Actividad transformante (x 10^6 transformantes resistentes a 25 µg de catomicina por ml/µg DNA)	Nuevas marcas (x 10^4 mutantes resistentes a 40 µg por ml de estreptomicina/ml de mezcla)
DNA desnaturalizado, no congelado (A).	0,93	1,52
DNA desnaturalizado, congelado y descongelado (B).	0,99	1,20
DNA renaturalizado a partir de (A).	27,80	1,62
DNA renaturalizado a partir de (B).	22,50	1,98
Sin DNA	0	1,43

DISCUSIÓN

Nuestros resultados muestran, que en las condiciones usadas, el proceso de congelamiento y descongelamiento del DNA purificado; no alteró la actividad transformante del DNA nativo, no cambió la actividad transformante residual del DNA desnaturalizado por el calor, ni afectó tampoco la elevación de la actividad transformante obtenida por renaturalización del DNA desnaturalizado por el calor. Este proceso de congelación y descongelación no indujo mutaciones, aparentemente, en el DNA nativo o desnaturalizado por el calor. Con base en lo anterior, podemos decir que la estructura del DNA nativo de *H. influenzae* y del DNA desnaturalizado por el calor, no fue modificada por el proceso de congelación y descongelación. Shikama (1), no

Pensamos que el proceso de congelación a −70°, se puede emplear para conservar las preparaciones de DNA, ya que previene la contaminación, no cambia la actividad biológica del DNA transformante y no origina mutaciones en el mismo.

RESUMEN

La congelación a −70° y descongelación posterior del DNA transformante purificado de

Haemophilus influenzae, no alteró su estructura ni cambió su actividad biológica, asimismo no se detectaron mutaciones producidas "in vitro"

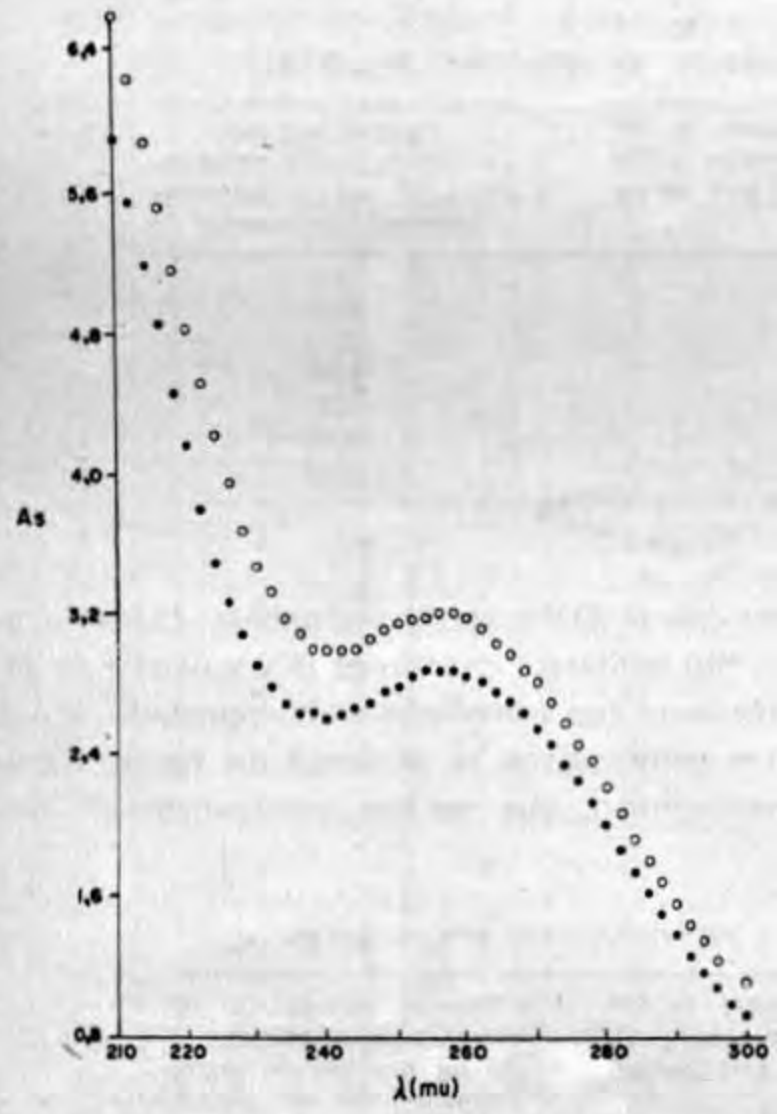


Fig. 2.— Espectro de absorción de C_{25} DNA desnaturalizado por el calor, sin tratar (•) y congelado y descongelado (o).

sobre el DNA por este tratamiento. Se sugiere la congelación a −70° para conservar las preparaciones de ácido desoxirribonucleíco.

Summary

The process of freezing at −70° C and thawing extracellular transformant DNA from *Haemophilus influenzae,* does not alter the transforming activity of native DNA; it does not change the residual transforming activity of heat denatured DNA and it does not affect the rise in transforming activity obtained by renaturation of heat denatured DNA. This process of freezing and thawing apparently does not induce mutations in native or heat denatured DNA. On basis of these results we can say that, in general, the structure of native and heat denatured DNA is not modified by the freezing and thawing process. A slight hyperchromic effect on native DNA, was observed after four or five consecutive freezings and thawings, this is due possibly to denaturation of partially denatured DNA produced during isolation. We can not eliminate that this slight hyperchromic effect is due to some localized denaturation of native DNA that it does not change the transforming activity. We believe that the process of freezing at −70°C can be used to preserve the preparations of DNA, this procedure prevent the contamination, it does not change the biological activity of transforming DNA and it does not cause mutations in DNA.

Los autores agradecen las sugestiones del Profesor Roger M. Herriott y las útiles discusiones con los Drs. G. Carvajal y J. Guzmán.

Emiliano Cabrera-Juárez
y
Eugenia J. Olguín-Palacios

Departamento de Bioquímica,
Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, I.P.N.
México 17, D. F. México.

Nota bibliográfica

1. Shikama, K., *Nature,* **207**: 529, 1965.

2. Goodgal, S. H. y R. M. Herriott, *J. Gen. Physiol.,* **44**: 1201, 1961.

3. Hsu, Y. C. y R. M. Herriott, *J. Gen. Physiol.,* **45**: 197, 1961.

4. Alexander, H. E. y G. Leidy, *J. Exptl. Med.,* **97**: 17, 1963.

5. Cabrera-Juárez, E. y R. M. Herriott, *J. Bacteriol.,* **85**: 671, 1963.

Sobretiro de *Ciencia, Méx.,* XXVI (2): 65-68, México, D F., 30 de abril de 1968.

SINTESIS Y ESPECTROSCOPIA DE NUEVOS DERIVADOS DEL ASARALDEHIDO

Parte III

La presente comunicación es parte de una serie de investigaciones, unas ya publicadas (1, 2) y otras llevándose a cabo, sobre la preparación de nuevos derivados del asaraldehido (I).

La hidroasaroína, 2, 4, 5, 2', 4', 5'-hexametoxi-hidrobenzoína (II), se preparó por reducción electrolítica del asaraldehido en medio alcalino, utilizando como ánodo y cátodo electrodos de platino y de cobre, respectivamente. En su espectro infrarrojo se observa la desaparición de la banda de carbonilo en 1 660 cm^{-1}, correspondiente al grupo aldehido original, apareciendo en 3 600 cm^{-1} la banda característica del grupo oxhidrilo. Los grupos metoxilo originan bandas en 1 455, 1 320, 1 250, 1 190, 1 120 y 1 030 cm^{-1}. En el espectro de RMN se observan dobletes en 3,03 y 5,18 ppm (J = 4 c/s), con una intensidad de 2 protones c/u. En presencia de D_2O, el primer doblete (2 OH) desaparece debido al intercambio con deuterio, en tanto que el segundo (CH-CH) aparece en forma de singulete debido a la falta de la interacción con los grupos OH y a la simetría de la molécula. Los hidrógenos meta y orto aromáticos originan singuletes en 6,45 y 6,73 ppm (intensidad 2H c/u). Los hidrógenos correspondientes a los grupos metoxilo aparecen en la región de 3,8 ppm.

Se efectuó la condensación del asaraldehido con la *n*-amil-metil-cetona, catalizando con hidróxido de sodio. La cetona α,β-no saturada resultante de esta reacción de Claisen-Schmidt, III, es un sólido cristalino, amarillo, que presenta en el IR (en KBr) bandas en 1 650, 1 475 y 990 cm^{-1}. En el espectro de RMN tiene dobletes en 6,65 y 7,91 ppm (intensidad 1 H c/u), con una constante de acoplamiento J = 16 c/s, característica de una doble ligadura trans.

El asaraldehido se condensó con la antrona, utilizando piridina como disolvente y piperidina como catalizador básico (3). La asariliden-antrona, IV, de color rojo-naranja, tiene en su espectro de RMN un singulete en 3,46 ppm (integración 3H), originado por un grupo metoxilo que se encuentra en una región de blindaje positivo (anisotropía diamagnética) (4, 5). Este efecto es similar al encontrado en la asariliden y en la *iso*-asariliden desoxibenzoínas, V y VI (2).

Con la idea de efectuar una nueva síntesis del asaraldehido, se intentó oxidar el metilo del 2, 4, 5-trimetoxitolueno, empleando ácido crómico y ácido acético como disolvente (Se tuvo en cuenta lo resistente del aldehido para ser oxidado a ácido). De la oxidación se obtuvo 2-metil-5 metoxi-*p*-benzoquinona, en vez del aldehido, quedando de manifiesto lo lábil que son en esta molécula los grupos metoxilo que entre sí se encuentran en posición para, y lo resistente del metilo a la oxidación. El 2, 4, 5-trimetoxitolueno empleado en este experimento se preparó por hidrólisis y metilación, simultáneas, del 2, 4, 5-triacetoxitolueno, obtenido este último a partir de toluquinona mediante la reacción de Thiele (6, 7).

El 2, 4, 5-trimetoxitolueno forma un picrato de color rojo obscuro, casi negro, en proporción molecular 1:1 (compárese con 8), y da un aducto rojo intenso con 1, 3, 5-trinitrobenceno. El análisis elemental del aducto indica que el TNB se encuentra en proporción molecular de 2 a 1.

El asaraldehido se hizo reaccionar con la 2, 5-hexanodiona (acetonilacetona). Empleando de cetona una relación molar 5:1 se preparó la 1-asariliden-2, 5-hexanodiona (VII), en tanto que empleando de asaraldehido una proporción 2:1 se obtuvo la 1, 6-diasariliden-2, 5-hexanodiona (VIII). El compuesto VII presenta en el infrarrojo bandas en 1 715, 1 655 y 985 cm^{-1}, en tanto que en el espectro de VIII no se encuentra la banda de 1 715 cm^{-1} debido a que ambos carbonilos se hallan conjugados (9). En el espectro de resonancia magnética nuclear de la 1-asariliden-2, 5 hexanodiona se obtuvo un singulete en 2,21 ppm (intensidad 3 H), metilo del grupo $CO\text{-}CH_3$, y en 2.88 ppm aparece una señal múltiple, simétrica, característica de un sistema A_2B_2, debida a los dos grupos metileno. La doble ligadura, de configuración trans, origina dobletes en 6,65 y 7,95 ppm (J = 16 c/s; 1H c/u). La 1,6-diasariliden, 2,5 hexanodiona (VIII) presenta en su espectro de RMN un singulete en 3,06 ppm (integración 4 protones) correspondiente a los metilenos (la molécula es simétrica). El doble enlace origina líneas similares a las del compuesto anterior.

La 1,5 bis (2', 4', 5'-trimetoxifenil)-3-pentadienona (diasariliden--acetona, IX) (2) se hizo reaccionar con acetoacetato de etilo, formándose la 2-carboetoxi-3 (2', 4', 5'-trimetoxifenil)-5 (2'', 4'', 5''-trimetoxiestiril)-5 ciclohexen-1-ona (X). El producto es de color amarillo, en contraste con el anaranjado de la dienona original. Tiene bandas en el IR en 1 740, 1 655 y 980

cm^{-1}. Su espectro de RMN muestra las señales características del grupo etilo esterificado. Un singulete en 6,11 ppm (1 protón) se adjudicó al hidrógeno vinílico en posición alfa a la cetona. El doble enlace del grupo estirilo es *trans* (J = 16 c/s). Véase el trabajo de Dickinson y col. sobre metil-estiril-cetonas (10).

Con el objeto de realizar un ensayo biológico, se sintetizaron las pentametoxi-chalconas XI y XII, con los grupos metoxilo en las posiciones 2, 4, 5, 2', 4' y 2, 4, 5, 2', 5', respectivamente. Comparando con la 2, 4, 5, 2', 4', 5'-hexametoxi-chalcona (1), obsérvese que en cada caso, en el anillo procedente de la acetofenona, falta uno de los metoxilos. Las chalconas se prepararon por condensación del aldehido asarílico con la dimetoxiacetofenona adecuada, usando hidróxido de sodio como catalizador. Los espectros de resonancia magnética nuclear se encuentran en las Tablas II y III. No se indica la integración de protones debido a que la curva no permitió establecer individualmente la intensidad relativa de las líneas. Compárese con los datos analíticos descritos para el 1, 2, 4-trimetoxibenceno (11).

A partir de asaraldehido y *p*-anisidina se preparó la base de Schiff XIII, comprobándose en el espectro IR la completa desaparición de la banda de carbonilo aldehídico. Se intentó adicionar cianoacetato de metilo ó cianoacetamida sobre la doble ligadura carbono-nitrógeno del azometino (12, 13) con el objeto de obtener α-ciano, β-*p*-anisidino, β-asaril, propionato de metilo (XIV) y 2-ciano, 3-*p*-anisidino, 3-asaril, propionamida (XV). Se encontró que, empleando ó no piperidina como catalizador, se forma, en ambos casos, el producto de reacción del adehido con el cianoderivado, previo desdoblamiento de la base de Schiff. Los compuestos resultantes (XVI y XVII) fueron idénticos a los obtenidos por síntesis directa, descritos en el primer artículo (1).

Fellenberg indicó que el aldehido cinámico y la vainillina dan color rojo azuloso con isobutanol y ácido sulfúrico concentrado. El piperonal da un color azulado. La reacción es general para los aldehidos aromáticos (14). Se efectuó la reacción con asaraldehido, obteniéndose en dos ensayos diferentes color azul oscuro y color rojo violáceo. Agregando el ácido sulfúrico lentamente y resbalando por las paredes del tubo de ensayo, estratificando, se observa que la solución alcohólica, fase superior, se colorea de azul en tanto que el ácido toma color rojo. La coloración final, al mezclar, depende, por lo tanto, de la proporción alcohol-ácido.

Se considera (14) que el ácido sulfúrico deshidrata al isobutanol, produciendo isobutileno, el cual reacciona con el aldehido formando un colorante complejo. Utilizando asaraldehido, se modificó la reacción empleando otros alcoholes (propanol, isopropanol, butanol, alcohol amílico e isoamílico) obteniéndose las mismas coloraciones que con isobutanol: azul y rojo al es-

TABLA I

DATOS ANALÍTICOS DE LAS DETERMINACIONES DE RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR

Señal en ppm (δ). Compuesto					Multiplicidad de la señal	Integración de protones					Interpretación
III	IV	VII	VIII	X		III	IV	VII	VIII	X	
0,91					Múltiple						-$(CH_2)_4$-CH_3
				1,03	Triple					3	-COO CH_2-CH_3
		2,21			Sencilla			3			-CO-CH_3
2,66					Triple	2					-CO-CH_2-CH_2-
		2,88			Múltiple			4			-CO-CH_2-CH_2-CO-
			3,06		Sencilla				4		-CO-CH_2-CH_2-CO-
	3,46				Sencilla		3				-O-CH_3
3,91	3,90	3,91	3,86	3,83	Sencilla	9	6	9	18	18	-OCH_3
				6,11	Sencilla					1	C=CH-CO=
6,53	6,56	6,51	6,48	6,50	Sencilla	1	1	1	2	1	Ar-H (meta)
				6,57	Sencilla					1	Ar-H (meta)
6,65		6,65	6,65		Doble	1		1	2		-CH=CH-CO
				6,73	Doble					1	Ar-CH=CH-
				6,80	Sencilla					1	Ar-H (orto)
7,06	6,66	7,06	7,05	7,05	Sencilla	1	1	1	2	1	Ar-H (orto)
	7,68				Sencilla						H vinílico
7,91		7,95	7,95	7,36	Doble	1		1	2	1	Ar-CH=CH-

tratificar, y violeta después de agitar. Con metanol y etanol se obtiene color verde, tanto en la interfase como después de agitar, siendo la coloración más intensa con el primero. A diferencia del asaraldehido, el piperonal y el veratraldehido, en solución metanólica o etanólica, dan color rojo con ácido sulfúrico concentrado.

Se informará de experimentos subsiguientes en una comunicación posterior.

TABLA II

DATOS ANALÍTICOS DE LA DETERMINACIÓN DE RMN EN LA 2, 4, 5, 2', 4'-PENTAMETOXI-CHALCONA

Señal en ppm (δ)	Multiplicidad de la señal	Constante de acoplamiento	Interpretación
3,90	Sencilla		-O-*CH*$_3$
6,50	Sencilla		Ar-*H* (3)
6,50	Doble	2,5	Ar-*H* (3')
6,58	Cuádruple	8,5; 2,5	Ar-*H* (5')
7,11	Sencilla		Ar-*H* (6)
7,38	Doble	16	C*H*=*CH*-CO-
7.71	Doble	8,5	Ar-*H* (6')
7,98	Doble	16	Ar-*CH*=CH-

TABLA III

IGUALMENTE EN LA 2, 4, 5, 2', 5'-PENTAMETOXI-CHALCONA

Señal en ppm (δ)	Multiplicidad de la señal	Constante de acoplamiento	Interpretación
3,88	Sencilla		-O-*CH*$_3$
6,50	Sencilla		Ar-*H* (3)
6,93	Sencilla		Ar-*H* (6)
7,05	Cuádruple	8,5; 1,5	Ar-*H* (4')
7,11	Doble	1,5	Ar-*H* (6')
7,21	Doble	8,5	Ar-*H* (3')
7,25	Doble	16	-CH=*CH*-CO-
7,95	Doble	16	Ar-*CH*-CH-

PARTE EXPERIMENTAL

Los espectros de resonancia magnética nuclear fueron determinados por el Sr. Quím. E. Díaz, en un espectrómetro Varian A-60, en solución de $CDCl_3$, utilizando tetrametilsilano como referencia interna. Los espectros de infrarrojo fueron determinados por la Srta. Q.F.B. R.M. González, en un espectrofotómetro Unicam S. P. 200, de doble haz. Los microanálisis los efectuó el Dr. A. Bernhardt, Max Plank Institut, Mülheim (Ruhr, Alemania).

Asaraldehido (I).—Se preparó siguiendo el método descrito en el primer artículo (1).

2, 4, 5, 2', 4', 5'-Hexametoxihidrobenzoína (Hidroasaroína) (II).—Aparato utilizado en la reducción electrolítica del asaraldehido. El ánodo es un electrodo de platino. La celda del ánodo está formada por un vaso de precipitados de un litro de capacidad. En su interior va la celda del cátodo; se utilizó una celda porosa "Coors" (Chemical and Scientific Porcelain. Golden, Colorado. EE. UU.: No. Cat. 700, tamaño 5), recipiente cilíndrico de 10 cm de altura, 5 cm de diámetro y 144 ml de capacidad. La celda lleva un tapón de hule, bihoradado, en el cual van un tubo de vidrio para el desprendimiento de hidrógeno y el cátodo, electrodo de cobre formado por una lámina enrollada de 3,8 x 12,7 cm (Cenco, No. Cat. 79344). El desprendimiento de hidrógeno se mide por el volúmen de agua desplazada de una probeta de 1 litro invertida sobre agua contenida en un vaso de precipitados de 2 litros. Para la reducción se utilizaron 2 de estas unidades conectadas en serie entre sí y con un aparato rectificador de corriente, constituido por 4 rectificadores de silicio, voltímetro (0-80 V) y amperímetro (0-5 A). Se utilizaron fusibles "Difus" (5 A, 250 V). La intensidad de corriente se controló con un transformador variable. Los bornes del rectificador se identificaron con papel buscapolos.

Reducción electrolítica del asaraldehido. La celda del ánodo lleva solución de hidróxido de potasio al 5% y la del cátodo una solución tibia de 2 g de asaraldehido en 36 ml de etanol a la cual se agregó una solución de 4 g de hidróxido de potasio en 32 ml de agua. La otra unidad no lleva asaraldehido y sirve de testigo ya que en la celda de reducción se consume parte del hidrógeno resultante de la electrólisis del agua. Con un voltaje de 25 V pasó una intensidad de corriente de 1 A. Al igualarse la velocidad de desprendimiento de hidrógeno según lectura en las probetas se dio por terminada la reducción (3 h aprox.). La mezcla de reacción se neutralizó con ácido clorhídrico diluido y se concentró, evaporándose la mayor parte del alcohol. Por reposo durante la noche cristalizó un sólido, el cual se filtró y recristalizó de metanol-agua. Se obtuvieron 400 mg de un sólido blanco, p. f. 155-6°, el cual retiene agua. La muestra analítica se obtuvo por recristalización de cloroformo-hexano, en forma de agujas blancas con p. f. 163-4°. El producto da color verde intenso con ácido sulfúrico concentrado. ν_{max} (KBr) 3 600 cm^{-1}. Calc. para $C_{32}H_{38}O_{12}$: C, 60 90; H, 6,64; O, 32,45. Encontrado: C, 60,93; H, 6,79; O, 32,45.

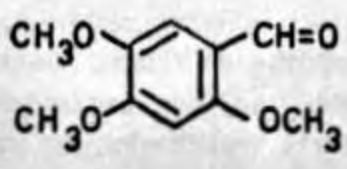
1-(2, 4, 5-Trimetoxifenil)-1-octen-3-ona (III).—(Asariliden *n*-amil-metil-cetona). 1 g de asaraldehido se disolvió en 25 ml de etanol y se le añadieron 0,73 ml de *n*-amil- metil-cetona (heptanona-2) y 1 ml de solución de hidróxido de sodio al 20%. La solución tomó color amarillo. Se calentó a 50° y se dejó enfriar. Empezó a cristalizar un sólido amarillo. Se dejó reposar durante 24 h. Los cristales formados se filtraron y lavaron con etanol. Se obtuvieron 770 mg con p. f. 109-112°, en forma de prismas aciculares amarillos. Dió abatimiento del p. f. al mezclarlo con asaraldehido. Las aguas madres se diluyeron con 75 ml de agua y se dejaron reposar durante 24 h. Se filtró una pequeña cantidad de sólido amarillo con p. f. 106-110°. El producto de p. f. 109-112° se recristalizó de metanol, obteniéndose 675 mg de prismas planos amarillos que funden a 109-111°. ν_{max} (KBr) 1 650, 1 475 y 990 cm^{-1}. Calc. para $C_{17}H_{24}O_4$: C, 69,84; H, 8, 27; O, 21, 89. Encontrado: C, 70,02; H, 8,08; O, 22,07.

Asariliden-antrona (IV).—2 g de asaraldehido y 2 g de antrona se disolvieron en 8 ml de piridina y 4 gotas de piperidina. La solución se reflujó durante 6 h, tomando color naranja el cual viró a rojo oscuro. Se dejó enfriar a temperatura ambiente y se virtió sobre

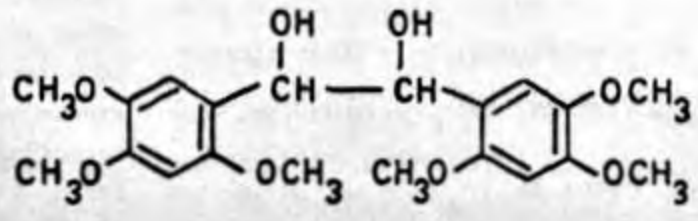
30 ml de ácido clorhídrico diluido (1:1). Se separó un aceite semisólido, rojo. Se enfrió en hielo y se talló el aceite con una varilla de vidrio hasta que se solidificó. El sólido rojo formado se trituró, filtró y lavó con agua. El producto se disolvió en etanol, se filtró y recristalizó (es bastante insoluble). Se obtuvieron 2,3 g de un sólido anaranjado, microcristalino, con p. f. 108-138°. Por concentración de las aguas madres se obtuvo una sustancia microcristalina, amarilla, que funde a 230-40° (antraquinona impura).

Los 2,3 g de sólido de p. f. 108-138° se recristalizaron de acetato de etilo, cristalizando 1,6 g de un sólido anaranjado intenso, con p. f. 154-164° (microcristales). De las aguas madres se obtuvo otra sustancia amarillo-naranja, p. f. 156-170°, que no dio abatimiento del p. f. al mezclarla con antrona.

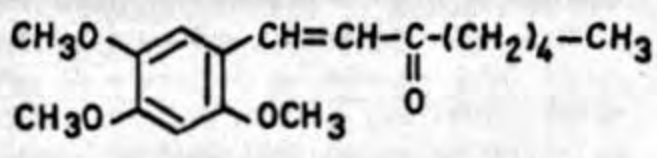
Por recristalización de acetato de etilo del producto de p. f. 154-164° se obtuvo 1 g de un sólido rojo naranja, p. f. 165-9°, el cual, mezclado con antrona, dió abatimiento del punto de fusión. Recristalizado de acetona se obtuvo en forma de pequeños prismas rojo- naranja (730 mg), con p. f. 172-3°. Otra recristalización



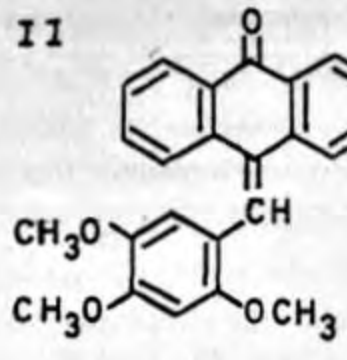
I



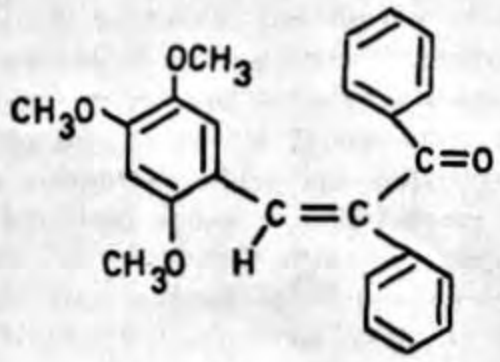
II



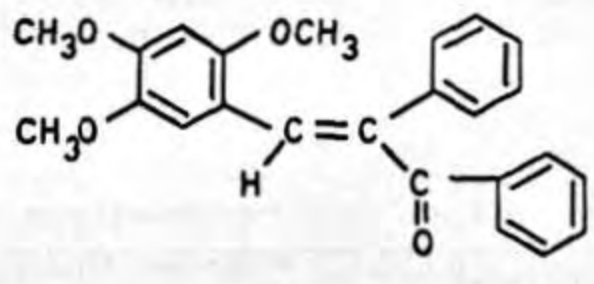
III



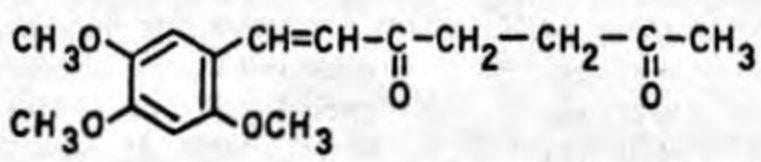
IV



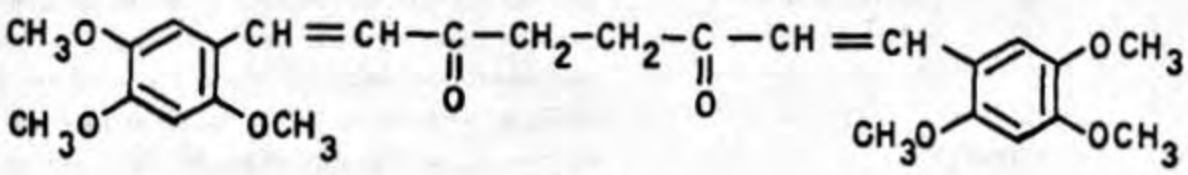
V



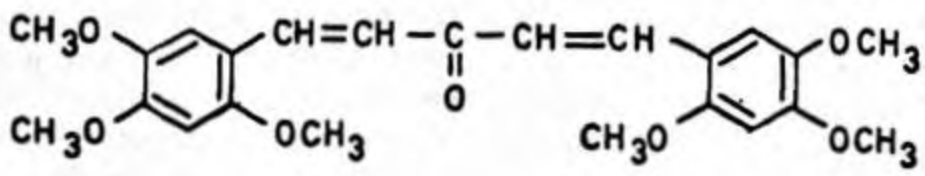
VI



VII



VIII



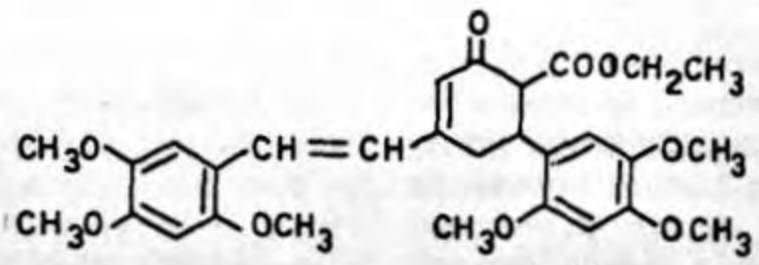
IX

de acetona no elevó el punto de fusión. ν_{max} (KBr) 1 655 cm^{-1}. Calc. para $C_{21}H_{20}O_4$: C, 77,40; H, 5,41; O, 17,18. Encontrado: C, 77,32; H, 5,38; O, 17,13.

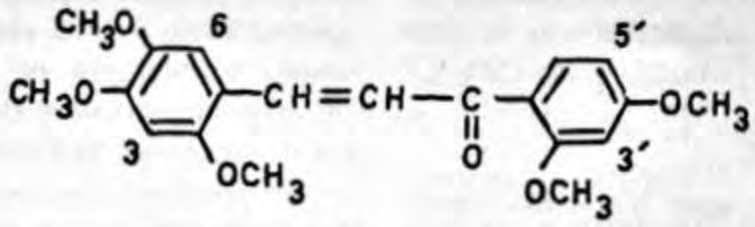
2, 4, 5-Triacetoxitolueno.—Se preparó a partir de 5 g de toluquinona (Eastman, 3520), 15 ml anhidrido acético y 0,4 ml de ácido sulfúrico concentrado, siguiendo el método empleado para obtener el 1, 2, 4-triacetoxibenceno (15). La mezcla de reacción se dejó estar durante la noche. Se virtió en 60 ml de agua. El sólido se recristalizó de 25 ml de metanol caliente, obteniéndose 6,04 g de producto blanco con p. f. 104-7° (6, 7). ν_{max} (KBr) 1 770 y 1 370 cm^{-1}.

2, 4, 5-Trimetoxitolueno.—Se preparó a partir de 6 g de triacetoxitolueno en 12 ml de metanol y 21 ml de sulfato de dimetilo, añadiendo una solución de 18 g de hidróxido de sodio en 18 ml de agua, de manera similar a la utilizada en la preparación del 1, 2, 4-trimetoxibenceno (16). Se obtuvieron 2,5 g de 2, 4, 5, trimetoxitolueno con p. f. 46-48,5°. Recristalizado de metanol acuoso fundió a 49-50°. ν_{max} (KBr) 1 400 y 1 380 cm^{-1}. El producto es idéntico al obtenido a partir de asaraldehido (2).

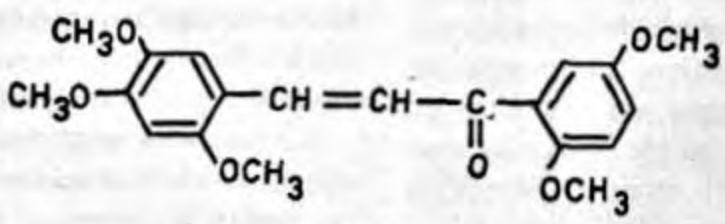
Picrato del 2, 4, 5-trimetoxitolueno.—600 mg de 2, 4, 5-trimetoxitolueno se disolvieron en 1 ml de metanol y se les añadió una solución de 750 mg de ácido pícrico en 6 ml de metanol. La solución resultante, de color



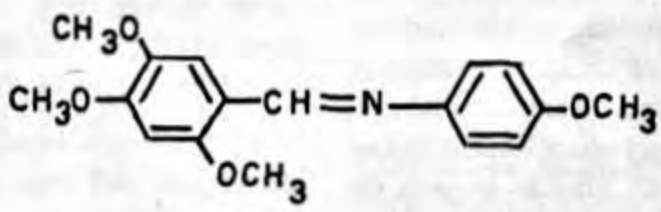
X



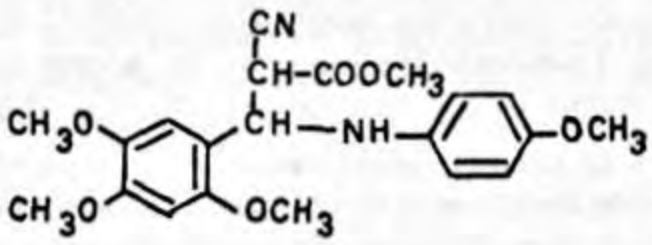
XI



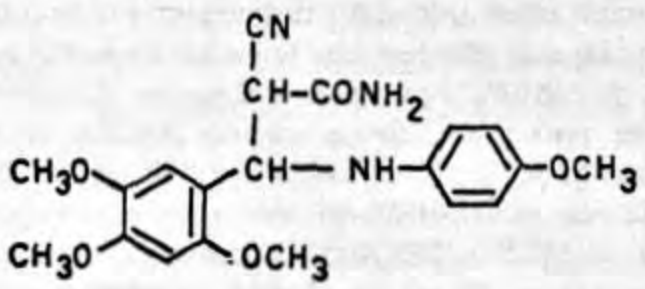
XII



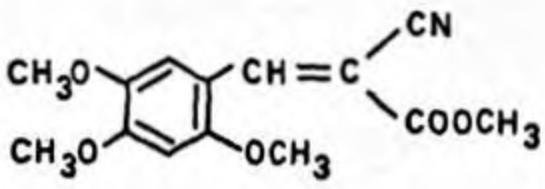
XIII



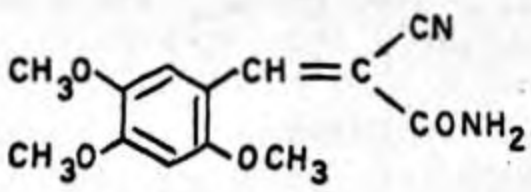
XIV



XV



XVI



XVII

rojo intenso, se concentró y enfrió en hielo. Se filtraron 590 mg de agujas prismáticas de color rojo oscuro, casi negro, p. f. 72-5°. 300 mg del producto se recristalizaron de metanol, obteniéndose 100 mg con p. f. 73-5°. El picrato es muy soluble en etanol y metanol. Calc. para $C_{16}H_{17}O_{10}N_3$ ($C_{10}H_{14}O_3C_6H_3O_7N_3$): C, 46,72; H, 4,17; O, 38,90; N, 10,22. Encontrado: C, 46,77; H, 4,31; O, 38,86; N, 10,41.

Aducto del 2,4,5-trimetoxitolueno con 1,3,5-trinitrobenceno.—1 g de 2,4,5-trimetoxitolueno se disolvió en 1,5 ml de benceno y se le agregó una solución de 585 mg de 1,3,5-trinitrobenceno (TNB) en 6 ml de benceno. La solución resultante, de color rojo obscuro, se concentró, cristalizando al enfriarla en hielo y tallarla con una varilla de vidrio. Se obtuvieron 230 mg de sólido en forma de pequeñas agujas prismáticas de color rojo obscuro, p. f. 64-84°. Por recristalización de benceno se obtuvieron 100 mg con p. f. 81-4°. El aducto es muy soluble. Calc. para $C_{22}H_{20}O_{15}N_6$ ($C_{10}H_{14}O_3 \cdot 2C_6H_3O_6N_3$): C, 44,52; H, 3,53; O, 38,81; N, 13,14. Encontrado: C, 44,30; H, 3,63; O, 39,16; N, 12,86.

Oxidación del 2,4,5-trimetoxitolueno con ácido crómico.—A una solución de 1 g de 2,4,5-trimetoxitolueno en 2 ml de ácido acético, enfriada en hielo, se le agregó una solución helada de 2 g de anhidrido crómico en 2 ml de agua y 3 ml de ácido acético. La mezcla de reacción se diluyó con agua fría hasta un volumen de 50 ml. Se filtraron 400 mg de un sólido amarillo con p. f. 168-72°, hojuelas nacaradas, el cual se identificó como 2 metil-5-metoxi-*p*-benzoquinona (2).

7(2',4',5'-Trimetoxifenil)-6-hepten-2,5-diona (VII).—(1-Asariliden-2,5-hexanodiona). En un matraz se disolvieron, calentando, 2 g de asaraldehido en 40 ml de etanol, y se añadieron 6 ml de 2,5-hexanodiona (acetonilacetona), y luego, gota a gota y agitando, 0,5 ml de solución acuosa de hidróxido de sodio al 20%. Al añadir la sosa la solución tomó color amarillo intenso. Se tapó el matraz y se dejó a temperatura ambiente (20°) durante 4½ h. La solución tomó color rojo café, casi negro, y cristalizó. Se filtraron y lavaron 930 mg de hojuelas amarillo naranja con p. f. 148-50°. Las aguas madres se diluyeron con 100 ml de agua y se dejaron reposar durante 18 h. El sólido formado se filtró, obteniéndose 180 mg de un sólido naranja con p. f. 141-7°. Al recristalizar de etanol subió el p. f. a 147-9° (160 mg) El producto de p. f. 148-50° se disolvió en 25 ml de alcohol, se filtró y concentró a 10 ml. Al enfriar cristalizaron 860 mg de hojuelas nacaradas amarillo naranja que funden a 149-150,5°. Dio reacción positiva (color verde) en la prueba con nitroprusiato de sodio (17). ν_{max} (KBr) 1 715, 1 655 y 985 cm^{-1}. Calc. para $C_{16}H_{20}O_5$: C, 65,74; H, 6,90; O, 27,36. Encontrado: C, 65,91; H, 6,92; O, 27,53.

1,8 Bis(2',4',5'-trimetoxifenil)-1,7 octadien-3,6-diona (VIII).—(1,6-diasariliden-2,5-hexanodiona).—En un matraz de 125 ml se disolvieron 2 g de asaraldehido en 40 ml de etanol y se añadieron 0,56 ml de acetonilacetona y luego, gota a gota y agitando, 1 ml de solución acuosa de hidróxido de sodio al 20%. Al añadir la sosa la solución tomó color amarillo. Se tapó el matraz y se dejó a temperatura ambiente (20°) durante 24 h, al cabo de las cuales la solución tomó color café obscuro y empezó a cristalizar, filtrándose una pequeña cantidad (95 mg) de sólido amarillo ocre, microcristalino, con p. f. 177-183°. De las aguas madres de la reacción, diluidas con agua, no se aisló producto adicional.

La sustancia es muy poco soluble en alcohol. Se recristalizó de cloroformo-etanol, obteniéndose 70 mg con p. f. 199-201° (microcristales amarillos). La muestra analítica se obtuvo, mediante una segunda recristalización, en forma de pequeños prismas de color amarillo oro con p. f. 200-201°. Da reacción negativa en la prueba con nitroprusiato de sodio (metilcetonas). ν_{max} (KBr) 1 650 y 985 cm^{-1}. Calc. para $C_{20}H_{30}O_6$: C ,66,37; H, 6,43; O, 27,20. Encontrado: C, 66,24; H, 6,59; O, 27,40.

2 Carbetoxi-3(2',4',5'-trimetoxifenil)-5(2'',4'',5''-trimetoxi-estiril)-5-ciclohexen-1-ona (X).—A una solución de 1,5 g de diasariliden acetona en 90 ml de alcohol absoluto hirviendo, se le agregaron 0,6 ml de acetoacetato de etilo y una solución de etóxido de sodio preparada a partir de 100 mg de sodio y 5 ml de alcohol absoluto. La mezcla de reacción se reflujó durante 1 h y se dejó estar durante 24 h, cristalizando 980 mg de un sólido amarillo que se filtró y lavó con metanol, p. f. 154-6°, agujas sedosas. Se filtraron de las aguas madres de la reacción 565 mg de microcristales amarillos que se formaron posteriormente, p. f. 158-61°.

El producto con p. f. más alto se disolvió en cloroformo, se filtró, concentró y sustituyó por etanol, cristalizando lentamente 520 mg de un sólido amarillo en forma de agujas aterciopeladas muy pequeñas, con p. f. 173-8°. Una recristalización rápida de cloroformo-metanol dio 480 mg de microcristales amarillos, p. f. 163-5°.

La muestra analítica se obtuvo con p. f. 164-5° (755 mg) por recristalización del producto con p. f. 154-6°. La sustancia presenta fluorescencia amarilla con tintes verdosos. Al contacto con ácido sulfúrico concentrado da color violeta. ν_{max} (KBr) 1 740, 1 655 y 980 cm^{-1}. Calc. para $C_{29}H_{34}O_9$: C, 66,15; H, 6,51; O, 27,34. Encontrado: C, 66,30; H, 6,60; O, 27,48.

1,3-Dimetoxibenceno.—Para la preparación del éter dimetílico del resorcinol véase 18 y 19. P. e. 216-218°/760 mm; 92-5°/16 mm.

2,4-Dimetoxi-acetofenona.—El éter dimetílico de la resacetofenona ha sido preparado por metilación de la misma (20) y por reacción de Friedel y Crafts a partir de 1,3-dimetoxibenceno (21). P. e. 288°/760 mm; 156-161°/9 mm. P .f. 40° (de metanol), ν_{max} (KBr) 1 660 cm^{-1}.

2,4,5,2',4'-Pentametoxichalcona (XI).—Una mezcla de 2 g de asaraldehido y 1,8 g de 2,4 dimetoxiacetofenona se disolvió en 70 ml de alcohol absoluto y se añadió 0,5 ml de una solución de hidróxido de sodio al 20%. La solución transparente tomó color amarillo. Se dejó reposar durante 24 h, se concentró, hirviendo, a 20 ml tomando color rojo-naranja. Al enfriar, cristalizaron 2,35 g de un sólido amarillo en forma de pequeños prismas con p. f. 110-131°. El producto se recristalizó de cloroformo-metanol, obteniéndose 2,15 g de un sólido amarillo-naranja, p. f. 130-3° (ablanda desde 120°). Por concentración de las aguas madres de la reacción se aisló un sólido amarillo, el cual, recristalizado de cloroformo-metanol fundió a 131-3° (500 mg de prismas amarillos). La muestra analítica fundió a 132-3°. ν_{max} (KBr) 1 660 y 990 cm^{-1}. Calc. para $C_{20}H_{22}O_6$: C, 67,03; H, 6,19; O, 26,79. Encontrado: C, 67,20; H, 6,31; O, 26,70.

1,4-Dimetoxibenceno.—Para la preparación del éter dimetílico del quinol o hidroquinona véase 18 y 22. P. e. 212°/760 mm; 109°/20 mm. P. f. 55-6° (hojuelas, de etanol al 75%).

2,5-Dimetoxi-acetofenona.—El éter dimetílico de la quinacetofenona ha sido preparado por metilación de la misma (23) y por reacción de Friedel y Crafts a partir de 1,4-dimetoxibenceno (21, 24). P. e. 155-8°/14 mm. P. f. 20°. ν_{max} (Película) 1 680 cm^{-1}.

2,4,5,2',5'-Pentametoxichalcona (XII).—Se preparó de manera similar a la chalcona anterior. Cristalizaron 1,2 g de un sólido amarillo ocre. P. f. 97-9° (microcristales). De las aguas madres, por concentración, cristalizaron 800 mg adicionales con p. f. 98-100° (prismas). La muestra analítica se obtuvo, por recristalización de cloruro de metileno-éter, en forma de pequeños prismas amarillos con p. f. 103-4°. ν_{max} (KBr) 1 645 y 980 cm^{-1}. Calc. para $C_{20}H_{22}O_6$: C, 67,03; H, 6,19; O, 26,79. Encontrado: C, 67,29; H, 6,11; O, 26,69.

N-2,4,5-Trimetoxibenciliden-p-anisidina (XIII).—A una solución de 1 g de asaraldehido en 10 ml de etanol caliente se le agregó una solución de 600 mg de *p*-anisidina en igual volumen de alcohol caliente. Se utilizó *p*-anisidina práctica (Eastman P28), agregados cristalinos de color negro, p. f. 51-5°. En otro experimento se obtuvo el mismo resultado utilizando *p*-anisidina purificada mediante destilación, p. e. 221-2°/583 mm, p. f. 53-7°. A la mezcla de reacción se le agregaron 2 gotas de ácido clorhídrico concentrado. La solución tomó color amarillo. Se concentró, cristalizando 1,1 g de un sólido ligeramente amarillo (agujas muy pequeñas) con p. f. 131-3°. Por recristalización de metanol se obtuvieron agujas prismáticas de color paja, p. f. 133°. Calc. para $C_{17}H_{19}O_4N$; C, 67,76; H, 6,36; O, 21,24; N, 4,65. Encontrado: C, 67,66; H, 6,18; O, 21,40; N, 4,54.

El clorhidrato de la base se separó al burbujear ácido clorhídrico gaseoso a una solución etérea del azometino (350 mg en 100 ml de éter). Sólido amarillo, p. f. 187-9° (con evolución de gases).

Reacción de la N-2,4,5-Trimetoxibenciliden-p-anisidina con cianacetamida.—Una mezcla de 1 g de N-2,4,5-trimetoxibenciliden p-anisidina y 280 mg de 2-cianoacetamida, se disolvió en 40 ml de benceno y 10 ml de etanol. Se añadieron 0,2 ml de piperidina y se dejó estar durante 24 h. Se filtraron 730 mg de sólido con p. f. 233° (agujas prismáticas amarillas). De las aguas madres se obtuvieron 90 mg con igual p. f. Es poco soluble en metanol, del cual cristaliza en forma de polvo. La muestra analítica se obtuvo por recristalización de etanol, microcristales amarillos, p. f. 233-4°. El producto da color naranja con ácido sulfúrico concentrado. Con ácido nítrico al 65% (d 1,4) hay desprendimiento de gases y da color rojo-sangre. Tiene fluorescencia amarillo-verdosa a la luz u. v. El espectro IR es idéntico al de la 2,4,5-trimetoxibenciliden cianoacetamida (XVII) (1), con la cual no da depresión del p. f.

Reacción de la N-2,4,5-Trimetoxibenciliden-p-anisidina con cianacetato de metilo.—900 mg de la base de Schiff se disolvieron en 20 ml de benceno a temperatura ambiente y se añadieron 0,3 ml de cianacetato de metilo. La mezcla de reacción no cristalizó después de dejarla estar durante 4 h. Se agregaron 0,2 ml de piperidina, empezando a cristalizar. Se dejó durante 1½ h y se filtró el sólido formado, 500 mg de agujas amarillas con p. f. 191-4° (ablanda desde 170°). De las aguas madres se filtraron, después de tres días, 350 mg con p. f. 197°. El producto fundente a 191-4° se recristalizó de benceno, obteniéndose 440 mg con p. f. 196°. Da color rojo-naranja con ácido sulfúrico concentrado y presenta fluorescencia amarillo-verdosa a la luz ultravioleta. El compuesto se identificó como 2,4,5-trimetoxibenciliden-cianacetato de metilo (XVI) (1).

Resumen

Se prepararon los siguientes nuevos derivados del asaraldehido. Por reducción electrolítica del adehido (en medio alcalino) se obtuvo la 2,4,5,2'4',5'-hexametoxi-hidrobenzoína (hidroasaroína). Su estructura se comprobó (RMN) mediante intercambio con deuterio empleando agua pesada. El asaraldehido se condensó con la n-amil-metil-cetona, formándose la correspondiente cetona α,β-no saturada *trans*. El aldehido se hizo reaccionar con la antrona. El espectro de RMN de la asariliden-antrona indica que un grupo metoxilo se encuentra protegido (anisotropía diamagnética). Cuando el 2,4,5,-trimetoxitolueno se oxidó con ácido crómico se obtuvo la 2 metil, 5 metoxi, p-benzoquinona (en vez de oxidarse el grupo metilo). Del trimetoxitolueno anterior se prepararon el picrato y el aducto con TNB. Al hacer reaccionar el asaraldehido con la 2,5-hexanodiona (acetonilacetona) se obtuvieron, en dos experimentos diferentes, los productos de condensación sencilla y doble. El primero tiene en el espectro de RMN un multiplete simétrico, característico de un sistema A_2B_2. El espectro del segundo está de acuerdo con la simetría de la molécula. A partir de la diasarilidenacetona y de acetoacetato de etilo, se sintetizó la 2 carbetoxi, 3 (2',4',5'-trimetoxifenil), 5 (2'',4'',5''-trimetoxiestiril), 5 ciclohexen, 1-ona. Se preparon la 2,4,5,2',4'- y la 2,4,5,2', 5'-pentametoxi chalconas, así como la 2,4,5-trimetoxibenciliden p-anisidina. Se discute la reacción de los aldehidos aromáticos con isobutanol y ácido sulfúrico (reacción de Fellenberg). Se incluyen los datos espectroscópicos (IR y RMN) de los compuestos descritos.

Summary

The following new asaraldehyde derivatives were prepared. Electrolytic reduction of the aldehyde (alkaline medium) gave 2,4,5,2',4',5'-hexamethoxy-hydrobenzoin (hydroasaroin). The structure was proved (NMR) by deuterium exchange with heavy water. Asaraldehyde was condensed with n-amyl methyl ketone giving the correspondent *trans* α-β unsaturated ketone. The aldehyde reacted with anthrone. The NMR spectrum of asarylideneanthrone shows one methoxyl group is shielded (diamagnetic anisotropy).

Chromic acid oxidation of 2,4,5-trimethoxytoluene afforded 2 methyl, 5 methoxy *p*-benzoquinone (instead of methyl group oxidation). From the above mentioned toluene the picrate and the TNB adduct were prepared. Reaction of asaraldehyde with 2,5-hexanedione (acetonylacetone) produced, in two different experiments, the *mono* and the *bis* condensation products. The first exhibits in the NMR spectrum a symmetrical multiplet, characteristic of an A_2B_2 system. The spectrum of the second one is in accord with the symmetry of the molecule. From diasarylideneacetone and ethyl acetoacetate, 2 carbethoxy, 3 (2',4',5'-trimethoxyphenyl), 5 (2'', 4'',5''-trimethoxystyryl), 5 cyclohexen, 1-one was synthesized. 2,4,5,2',4'- and 2,4,5,2',5'-pentamethoxy chalcones were prepared, as well as 2,4,5-trimethoxybenzylidene-p-anisidine. The reaction of aromatic aldehydes with isobutanol and sulfuric acid (Fellenberg reaction) is discussed. NMR and IR spectral data of the compounds are recorded.

F. SÁNCHEZ-VIESCA
y
R. M. MAINERO

Facultad de Química,
Universidad Nacional Autónoma,
México, D. F.

BIBLIOGRAFÍA

1. SÁNCHEZ-VIESCA, F., *Ciencia, Méx.*, *25* (1): 25-30, 1966.

2. SÁNCHEZ-VIESCA, F. y R. M. MAINERO, *Ciencia, Méx.*, *25* (2): 61-66, 1966.

3. HALLER, A. y PADOVA, *Compt. rend.*, **141**: 857, 1905.

4. PASCUAL, C., *Afinidad (Barcelona)*, **21**: 263, 1964.

5. JACKMAN, L. M., Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, p. 126. Pergamon Press. Londres, 1959.

6. CORRAL, C., *Rev. real acad. cienc. exact., fís. y nat. (Madrid)*, **51**: 128, 1957.

7. THIELE, J. y E. WINTER, *Ann.*, **311**: 349, 1900.

8. BARIL, O. L. y G. A. MEGRDICHIAN, *J. Am. Chem. Soc.*, **58**: 1415, 1936.

9. FLETT, M., Characteristic Frequencies of Chemical Groups in the Infra-red, p. 48. Elsevier Publ. Co., 1963.

10. DICKINSON, R., I. M. HEILBRON y F. IRVING, *J. Chem. Soc.*, **1927**: 1888.

11. SALMÓN, M., E. CORTÉZ, E. DÍAZ, F. WALLS, *Bol. Inst. Quím. Univ. Nac. Autón. Méx.*, **17**: 151, 1965.

12. SMITH, W. F., *Org. Chem. Bull. (Eastman)*, **35**: 2, 1963.

13. LAZZARESCHI, C., *Gazz. chim. ital.*, **67**: 371, 1937.

14. SNELL, F. D. y C. T. SNELL, Colorimetric Methods of Analysis, Vol. III, p. 279. D. Van Nostrand Co. Inc., 1957.

15. VLIET, E. B., *Org. Synth., Coll.*, **1**: 317, 1941.

16. BARGELLINI, G. y E. MARTEGIANI, *Gazz. chim. ital.*, **41-II**: 448, 1911.

17. CHERONIS, N. D., J. B. ENTRIKIN y E. M. HODNETT, Semimicro Qualitative Organic Analysis, p. 396. Interscience, 1965.

18. HOLMBERG, G. A., *Acta Chem. Scand.*, **8**: 729, 1954.

19. DAVIES, J. E., F. E. KING, J. C. ROBERTS, *J. Chem. Soc.*, **1955**: 2783.

20. PERKIN, W. H., R. ROBINSON y M. R. TURNER, *J. Chem. Soc.*, **93-T**: 1108, 1908.

21. SHEPARD, E. R., H. D. PORTER, J. F. NOTH y C. K. SIMMANS, *J. Org. Chem.*, **17**: 570, 1952.

22. BOGERT, M. T. y H. P. HOWELLS, *J. Am. Chem. Soc.*, **52**: 840, 1930.

23. VYAS, G. N. y N. M. SHAH, *J. Indian Chem. Soc.*, **27**: 189, 1950.

24. ABBOTT, L. D. y J. D. SMITH, *J. Biol. Chem.*, **179**: 365, 1949.

Sobretiro de *Ciencia, Méx.*, XXVI (2): 69-76, México, D. F., 30 de abril de 1968.

Miscelánea

HOMENAJE AL PROFESOR MODESTO BARGALLO

El día 23 de marzo último la Sociedad Química de México, en la Sesión de Clausura del III Congreso Mexicano de Química Pura y Aplicada, rindió sentido homenaje al profesor Modesto Bargalló, de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas (I. P. N.) y asiduo colaborador de *Ciencia* desde hace más de veinte años. El acto se realizó en el teatro del Seguro Social, de Guadalajara (Jal.), que llenaron por completo los congresistas. Ocuparon la presidencia, junto con el homenajeado, los señores: Dr. Héctor Mayagoitia, Director General de Enseñanzas Tecnológicas; Ing. Quím. Luis E. Williams, Presidente del Congreso; Ing. Quím. Guillermo Cortina, Presidente de la Sociedad Química de México; Quím. Manuel Madrazo, Director de la Facultad de Química (U.N.A.M.); Quím. Fidel Villarreal, Profesor del Instituto Tecnológico de Monterrey y coordinador del homenaje; Dr. Manuel Urquiza, Presidente de la Sociedad Química de México; Quím. José I. Bolívar, Director de la Revista de la Sociedad Química de México; Lic. Juan Delgado Navarro, Jefe del Departamento de Economía del Estado.

El profesor J. I. Bolívar, de la Comisión Organizadora del Congreso justificó el homenaje con palabras elogiosas para el profesor Bargalló:

La Sociedad Química de México, me ha hecho el gran honor de conferirme la gratísima tarea de iniciar este acto en homenaje al Profesor Modesto Bargalló.

Al realizar este simbólico acto, la Sociedad continúa en su línea de conducta destacando a los valores que han dedicado toda una vida de esfuerzo e ilusión a la profesión química.

Con este mismo espíritu se realizó el año pasado el homenaje al Profesor Rafael Illescas, grandísimo maestro que orientó decisivamente la vida profesional de cientos de alumnos que ahora son los profesionales que dirigen la vida química de nuestro país.

Por ello, cuando el Profesor Fidel Villarreal, del Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey, propuso la realización de este evento, todas las opiniones se volcaron gustosas a su favor, y tuvimos, los encargados de llevarlo materialmente a cabo, el apoyo y la decidida simpatía de todos, hechos que ahora vemos confirmados al estar reunidos en la Clausura de este Congreso que viene a engrandecerse con una tarea tan grata y emocionante, ya que aquí nos encontramos reunidos muchos centenares de químicos, que de forma directa o indirecta, hemos sido alumnos de Bargalló (Don Modesto), habiendo recibido algo de esa gran inquietud y de esa profunda solidez de sus conocimientos, muy especialmente enfocados hacia la base de nuestro química, porque aun cuando todos quedemos impresionados por la fecundísima labor escrita del maestro, es indudable que su capacidad como educador fue aún más grande.

Quiero agradecer también al Profesor Héctor Mayagoitia, Director General de Enseñanzas Tecnológicas y profesor del I.P.N., su presencia aquí, pues a él se debe también, en gran medida, que tengamos ahora reunidos tantos ilustres profesionistas y alumnos del Instituto Politécnico, en donde Don Modesto (Bargalló) encontró, al llegar a México, el respaldo y el calor necesarios para desarrollar la labor académica que hasta hoy continúa haciendo tan brillantemente.

El Profesor Mayagoitia iniciará el desarrollo de este acto con unas palabras introductorias que contendrán indudablemente todo el cariño y la admiración de uno de sus más destacados discípulos que siempre ha sabido demostrarle su aprecio y su profunda admiración.

Para terminar sólo me resta, en nombre de la Sociedad, trasmitir un sincero agradecimiento a todos los que han permitido, con su ayuda y con su presencia aquí, dar a este Homenaje el justo valor que tiene y repetir a ustedes que nos sentimos embargados de una gran emoción al ver cómo al llamado del Presidente de la Sociedad, Ingeniero Guillermo Cortina, en su discurso inaugural, se está ya cumpliendo, puesto que dentro de un evento esencialmente científico y técnico, como ha sido este Congreso, hemos sabido no divorciarnos de los valores humanos.

No quiero tampoco terminar sin rendir completo tributo de simpatía al Profesor Villarreal, explicando que no solamente ha sido el alma y motor de este homenaje, sino que también a él se debe la idea y realización del hermoso

diploma que será entregado al Maestro Bargalló por la Sociedad Química de México, como un aporte muy especial de su División Noreste (Monterrey).

A continuación escucharán ustedes las palabras del Profesor Héctor Mayagoitia.

México se enorgullece de haber brindado su hospitalidad, leal y generosa, a un conspicuo exponente del pensamiento científico y de la acción educativa, en la relevante persona del ilustre Maestro Don Modesto Bargalló. Terminada la dramática lucha que ensangrentara a la Península Ibérica, en 1939 se refugió en nuestra patria, y en 1940 se incorporó al ejército de insignes educadores españoles que han dado gloria y prestigio al Instituto Politécnico Nacional. Aquí continuó la interminable cadena de realizaciones científicas, que había iniciado en la madre Patria, desde el momento mismo en que obtuvo su primer título académico como maestro elemental y superior en 1911.

Generaciones muy numerosas de las Vocacionales 1 y 3 de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas son elocuentes testimonios, de la total y generosa entrega que de su vida ha hecho a la enseñanza el Maestro Bargalló durante más de 50 años, ya que antes, de 1915 a 1939, impartió sus sabias enseñanzas en la Escuela Normal de Maestros de Guadalajara (España), como Profesor de Ciencias Físico-Químicas y Naturales.

Su tránsito por el Instituto Politécnico Nacional, ha dejado una profunda huella en sus alumnos, que con él hemos contraído una deuda de gratitud que no podremos saldar. Quienes hemos tenido la oportunidad de estar más en contacto con el Maestro Bargalló, por haber sido distinguidos con su generosa amistad o por habernos brindado el inmerecido honor de colaborar con él, hemos palpado intensamente su gran valor humano y la fortaleza de su espíritu.

Su vida y su obra, constituyen, sin duda alguna, el mejor ejemplo a seguir en la permanente dedicación a la investigación científica y en el estudio del amplio campo de la Química, la Física y la Físico-Química, que aplicadas al aprovechamiento integral y adecuado de los recursos naturales, conducen a la transformación del medio físico, para mejorarlo en beneficio del hombre, y a la estructura del México nuevo, que la actual generación viene forjando, bajo el impulso de las enseñanzas de educadores de la talla del admirado y admirable Maestro, Don Modesto Bargalló.

Acto seguido, el Prof. Fidel Villarreal, coordinador del homenaje, dio lectura a la siguiente biografía del Prof. Bargalló:

MODESTO BARGALLÓ: SU VIDA DOCENTE Y SU OBRA[1]

El profesor Bargalló nació en Sabadell (Barcelona, España) el 4 de enero de 1894. Hijo y nieto de maestros de escuela primaria. De sus padres recibió la enseñanza primaria y cultura general; y de sus vidas, una lección de excelsa conducta humana. Hizo los estudios del bachillerato, en Tarragona (1904-1910), recibiendo profunda huella de las enseñanzas de sus maestros: don Martín Navarro (Filosofía) y don Juan Ramonacho (Matemáticas). Se graduó de maestro elemental y superior, en 1911. En la Escuela de Estudios Superiores del Magisterio de Madrid, cursó los estudios y se graduó de profesor de Escuela Normal (Sección de Ciencias, título que sustituyó más tarde por el de Licenciado en Pedagogía) (1912-1915). En esa época, en el Museo Pedagógico de Madrid, asistió a los cursos de Química y de Pedagogía impartidos por los maestros don Edmundo Lozano y don Manuel Bartolomé Cossío; dichos maestros y don Luis de Zulueta, profesor de la citada Escuela, influyeron en alto grado en la orientación de su futura labor didáctica.

Profesor de Ciencias fisicoquímicas y naturales en la Escuela Normal de Maestros de Guadalajara (España) desde 1915 a 1939.

Se casó en 1920: de su esposa Luisa, dice el profesor Bargalló en el prólogo de su Tratado de Química Inorgánica, México, 1962 (34): "Sin su entusiasta, cariñosa y fiel colaboración y sin el aliento de su optimismo, en horas de inquietud y zozobra, no existiría buena parte de mi labor escrita".

Profesor en diversos cursillos de perfeccionamiento y selección de maestros en los años 1917, 1923, 1924, 1930, 1932... Presidente de la Sección primera del Consejo Superior de Cultura de la República Española (1938-1939).

Cursó los estudios de Licenciado en Ciencias Naturales en la Universidad de Madrid, graduándose en 1930; en 1931, hizo los estudios de su Doctorado. En esa época asistió a cursos prácticos de Ciencias Naturales en el Museo

[1] Por Fidel Villarreal, Héctor Mayagoitia y José I. Bolívar Instituto Tecnológico de Monterrey, Instituto Politécnico Nacional y Universidad Nacional Autónoma de México.

Nacional de Ciencias Naturales de Madrid, dirigido por don Ignacio Bolívar.

Desde 1916 a 1938, en España, publicó gran número de artículos y ensayos sobre Pedagogía y sobre Didáctica e Historia de las Ciencias físiconaturales en las siguientes Revistas de Escuelas Normales: Faraday (fundada por él), Quaderns d'Estudi, Butlletí dels Mestres, El Magisterio Tarraconense, Revista de Pedagogía, Boletín Escolar, Boletín de la Institución Libre de Enseñanza, Ciencia (Barcelona), etc.; y comunicaciones y notas en el Boletín de la Sociedad Española de Historia Natural, Anales de la Sociedad Española de Física y Química, y en los diarios de Madrid, El Sol y El Imparcial; además de algunos artículos de carácter filosófico o literario en Revista del Centro de Lectura (Reus), Ilustración Catalana (Barcelona) y Peñalara (Madrid).

De 1917 a 1936 (1-24) publicó, en España, los libros siguientes: Elementos de Química, de Guillermo Ostwald, traducción del alemán, 1917; Ciencias físiconaturales, primer grado, 1918; Manual de Química (en colaboración con M. Martín), 1919 (con 5ª ed. en 1935); Manual de Física, 1923 (con 4ª ed. en 1936); los pensamientos de Cajal sobre la educación ,1924; Vida Escolar (con 12 pequeños volúmenes y varias ediciones) 1920-1934; Química popular de Meyer, traducción, 1929; Prácticas de Física, de Wiedemann, traducción, 1932; Metodología de las Ciencias Naturales, 1931; Iniciación experimental en Física y Química, 1935; Nociones de Física y Química, 1935; Elementos de Física y Química, 1936 (las tres últimas obras constituyen los tres primeros grados de un desarrollo cíclico para el Bachillerato español); Problemas de Física y Química, 1933 (con 2ª ed. en 1936).

Llegó a México en 1939, al terminar la guerra de España. Desde 1940 hasta el presente, es profesor de Química en el Instituto Politécnico Nacional de México, D. F.; desde 1940 a 1954, en las Escuelas Vocacionales números 1 y 3 y desde 1945, en la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. En México ha continuado sus investigaciones sobre Metodología, Didáctica e Historia de la Química; desde 1954 se ocupa especialmente de la historia de la minería y de la metalurgia en el México prehispánico e Hispanoamérica colonial. Se ha ocupado, también, en temas de Química estructural inorgánica; y debe ser considerado como uno de los introductores en México, de las enseñanzas de la Química estructural moderna, y de las ideas de Pauling sobre el enlace químico. Ha publicado gran número de trabajos en las revistas Ciencia (México), Acta Politécnica Mexicana, Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural, Revista de la Sociedad Química de México, Química (México), Revista del Instituto de Ingenieros Químicos (México); colaboró en las revistas Educación y Romance (México); y colabora en Ciencia e Investigación (Buenos Aires); Boletín de la Sociedad Química del Perú (Lima); Boletín de la Sociedad Chilena de Química (Concepción, Chile); Ciencia y Tecnología, y Ciencia Interamericana (O.E.A., Wáshington); etc. A continuación se mencionan algunos de los trabajos de referencia:

Sobre la evolución de las modernas definiciones de elemento químico y algunas sugestiones de carácter didáctico; Revisión con fines didácticos de las definiciones de alotropía, isomería, polimería y polimorfismo; La valencia como expresión numérica; Una revisión de conocimientos químicos, la estructura de las sustancias y la enseñanza de la Química general e inorgánica; Programa de Química General e inorgánica basado en la estructura; Ensayo sobre el método de proyectos; Los cationes binarios de nitrógeno y oxígeno; Composición y constitución del ácido nítrico y sus soluciones; Ideas e investigaciones clásicas y modernas sobre la composición y estructura del ácido sulfúrico y sus soluciones; La estructura del agua líquida, ideas clásicas y modernas; Primer tratado completo y sistemático del beneficio de patio, de don Joseph Garcés y Eguía, metalúrgico mexicano; Lavoisier y el enigma de los cuatro elementos; Notas manuscritas de Andrés M. del Río; Varios artículos sobre la obra científica de Andrés Manuel del Río; El beneficio de amalgamación de las menas de plata de Bartolomé de Medina, primeras modalidades en Nueva España y en el Reino del Perú; La Cristalotecnia de Nicolás Leblanc; Los esposos Curie, la radioactividad y su descubrimiento.

Desde 1939 hasta el presente (25-89) ha publicado en México las siguientes obras: La Física del Hogar, 1939; Primeros conocimientos de Física, 1940; La Física en la Escuela, 1940; Cincuenta prácticas de Física, 1942; La minería y la metalurgia en la América española durante la época colonial, 1955; Curso de Química general, 1958 (con 5a. ed. en 1966); Curso de Química descriptiva, 1959; Diálogo del hierro del doctor Monardes (en colaboración con el Lic. don Carlos Prieto y don Francisco Guerra),

1961; Tratado de Química Inorgánica (para la enseñanza superior), con la colaboración de los profesores R. Illescas Frisbie, J. I. Bolívar, G. Cortina, C. Islas, J. Keller, M. Madrazo, E. P. Cancio, L. F. Piña, E. Soto, y S. de la Torre, 1962; Las ferrerías, 1965; La Química inorgánica y el beneficio de los metales en el México prehispánico y colonial (50º aniversario de la fundación de la Facultad de Química de la U.N.A.M.), 1966; Andrés Manuel del Río y su obra científica (en colaboración con C. Prieto, M. Sandoval Vallarta y A. Arnáiz y Freg), 1966. Ha colaborado en el Suplemento 1966, del Diccionario de historia, biografía y geografía de México, ed. Porrúa.

Ha intervenido desde 1950, en diversos congresos científicos hispanoamericanos, con las siguientes comunicaciones: en el Congreso Científico Mexicano (México, D. F., 1950), con La Terminología y las definiciones en la enseñanza de la Química en el V Congreso Suramericano de Química (Lima, 1941), con Las fórmulas químicas y propuesta del término *hílido* en sustitución del de isótopo en su acepción genérica; en el Primer Congreso Iberoamericano de Microquímica (Lima, 1958) con Los ensayos con agujas y piedra de toque según los Probierbüchlein y las obras de Agrícola y Ercker del siglo XVI; en el VII Congreso Latinoamericano de Química (México, D. F., 1959), presentó una comunicación sobre la Propuesta del término *erythronium* en sustitución del de vanadium, y otras dos sobre: Ejemplar de la edición alemana del libro de Crönstetd "Versüch eines Mineral Systems", 1780, con innumerables notas manuscritas del traductor A. G. Werner, y algunos libros alemanes sobre Mineralogía, Química, Física y metalurgia, de los años 1794 y 1818, procedentes de la biblioteca de don Lucas Alamán. En el primer Coloquio Mexicano de Historia de la Ciencia (México, septiembre de 1963) presentó un trabajo sobre la introducción en el Reino del Perú del beneficio de Bartolomé de Medina. En el IX Congreso Latinoamericano de Química (San Juan de Puerto Rico, 1965) presentó una comunicación sobre Las ferrerías en los primeros veinticinco años del México Independiente, y otra sobre Contribución al análisis del concepto químico-físico. En el VII Congreso Peruano de Química (Lima, 1965) presentó una comunicación sobre las cartas de Enrique Garcés (1574), sobre la contratación del azogue y la ley de la plata. En el II Congreso Mexicano de Química (Monterrey, 1967), un trabajo sobre El beneficio de patio y otro sobre La guaira horno de fundición del antiguo Perú; y actuó como ponente y coordinador en una mesa redonda sobre Filosofía de la Fisicoquímica. Ultimamente, 1966, en discursos pronunciados en el Hotel María Isabel y en el University Club de la ciudad de México, se ha ocupado de la Química inorgánica en el México prehispánico y colonial, y del Beneficio de patio.

Ha sido distinguido por la Dirección del Instituto Politécnico Nacional con el encargo de redactar programas y textos para Escuelas Vocacionales. Ha formado parte de tribunales de oposición a cátedras de Química inorgánica de la U.N.A.M., como sinodal extraescolar, invitado. Es socio correspondiente de la Sociedad Química del Perú; y la Comisión Iberoamericana de Normalizaciones (C.I.N.) con sede en Buenos Aires, le ha nombrado presidente de la sección especial para asuntos históricos. Fue presidente de sección en los VII y IX Congresos Latinoamericanos de Química y en el II Congreso Mexicano celebrado en 1967. La facultad de Química de la U.N.A.M., le encargó la redacción del tomo inicial de una serie sobre La Química en México, conmemorativa del quincuagésimo aniversario de la fundación de la Facultad, tomo que ya se ha publicado con el título: La Química Inorgánica y el beneficio de los metales en el México Prehispánico y Colonial, 1966. El ilustre historiador de Hispanoamérica y profesor de la Universidad de Columbia, Lewis Hanke, le ha dedicado uno de sus libros "en reconocimiento de sus valiosas contribuciones a la Historia de la América Hispánica".

Perteneció a las siguientes sociedades científicas: Asociación Española para el Progreso de las Ciencias; Sociedad Española de Historia Natural; Sociedad Catalana de Historia Natural; Sociedad Española de Física y Química; Actualmente es miembro de la Sociedad Química de México, Sociedad Mexicana de Historia Natural, Sociedad Mexicana de Historia de la Ciencia y la Tecnología; y de la Asociación Clásicos de la Ciencia.

La simple enunciación de los datos expuestos, perfila la dimensión intelectual del profesor Bargalló en las tareas docentes, de investigación, de difusión, y de ampliación de importantes ramas del conocimiento humano. El árbol se conoce por sus frutos. Todo juicio sobre la calidad humana, intelectual y docente del maestro Bargalló, sería redundante si se tratara de adjetivar lo sustantivo de una vida plena

y cabal. Y el reconocimiento de todos los que somos deudores de su esfuerzo personal, habrá de prolongarse en las generaciones que sigan aprovechando estos frutos.

Terminada la intervención del Prof. Villarreal, el Prof. Guillermo Cortina procedió, con visible emoción, a la lectura del pergamino que se otorgaría al Prof. Bargalló:

"La Sociedad Química de México otorga el presente Diploma al Profesor Modesto Bargalló, en reconocimiento a su meritoria labor de más de cincuenta años en el campo de la Química y en la enseñanza de esta Ciencia y de su Historia.—El III Congreso Mexicano de Química Pura y Aplicada le rinde merecido homenaje.—Guadalajara, Jal., Marzo 23 de 1968" (Firman el Diploma los Sres. Mayagoitia, Cortina, Urquizá, Williams, Bolívar y Villarreal).

El Prof. Cortina entregó el Diploma al maestro Bargalló, quien emocionado y con cortada palabra, agradece el homenaje:

Nuestros muy estimados colegas, Sres. Bolívar, Mayagoitia y Villarreal han hablado de reconocimiento y de deudas a mi humilde persona. Pero discretamente han callado las mías: Deuda con México y sus gobernantes que nos recibieron abriéndonos las puertas de esta gran Nación, en momentos muy difíciles; y que con toda generosidad nos permitieron ejercer aquí nuestra profesión más querida: la de la enseñanza. Deuda con quienes nos introdujeron en el Instituto Politécnico Nacional, nuestro querido Politécnico. Deuda con los Directores de sus Escuelas y con los colegas de quienes tantas atenciones hemos recibido, sin que olvidemos en nuestro reconocimiento a los compañeros universitarios, en especial a los de la Facultad de Química. Y deuda con nuestros queridos discípulos de Vocacionales y de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, que nos recibieron atenta y respetuosamente y pronto nos ofrecieron su cariño que guardamos en el corazón... A esas deudas tan voluminosas, viene a unirse ahora la de este homenaje... Nunca podremos liquidar nuestra deuda con México... Y seguiremos laborando hasta que la Parca nos siegue la vida con su guadaña y nuestro cuerpo se confunda con las entrañas de esta tierra mexicana, tan querida...

Gracias estimados colegas y congresistas. Gracias a quienes nos honran con su presencia en este acto. A todos, mil gracias.

PUBLICACIONES DEL PROFESOR MODESTO BARGALLO

LIBROS (1917-1967)

Elementos de Química de G. Ostwald. Trad. del alemán. E. G. Gili, Barcelona, (4ª ed. en 1934). 1917.

Ciencias físiconaturales. Primer grado escolar. Ed. Calleja. Madrid. 1919.

Manual de Química (colaboración de M. Martín; 5ª ed. en 1935). Ediciones Sardá, Guadalajara (España), 1919.

Vida Escolar (12 pequeños volúmenes con varias ediciones, para la enseñanza primaria). Ed. Sardá, 1920-1934.

Manual de Física (4ª ed., en 1935). Ed. Sardá, 1923.

Los pensamientos de Cajal sobre Educación. Ed. La Lectura. Madrid, 1924.

Química Popular, de Meyer, Trad. Ed. G. Gili, 1929.

Prácticas de Física de Wiedemann, Trad. Ed. G. Gili, 1932.

Metodología de las Ciencias Naturales. Ed. Sardá. 1932.

Problemas de Física y Química (2ª ed., en 1936). Ed. Sardá, 1933.

Iniciación Experimental en Física y Química. Ed. Sardá, 1935.

Nociones de Física y Química. Ed. Sardá, 1935.

Elementos de Física y Química. Ed. Sardá, 1936.

La Física del Hogar. Ed. Nuestro Pueblo. México, D. F., 1942.

Primeros conocimientos de Física, Ed. Séneca, México, D. F., 1940.

La Física en la Escuela, Ed. Ediapsa. México, D. F., 1940.

Cincuenta prácticas de Física. Ed. Atlante. México, D. F., 1942.

Manual de Didáctica y Organización Escolar (en colaboración). Ed. Losada. Buenos Aires, Argentina, 1947.

La Minería y la Metalurgia en la América Española durante la época Colonial. (Patrocinio de la Compañía Fundidora de Fierro y Acero de Monterrey). Ed. Fondo de Cultura Ecenómica, México, D. F., 1955.

Curso de Química General (6ª ed., en 1967). Ed. Marín. México, D. F., 1958.

Curso de Química Descriptiva. Ed. Marín. México, D. F., 1959.

Diálogo del hierro del doctor Monardes (en colaboración con C. Prieto y F. Guerra). Ed. Compañía Fundidora de Fierro y Acero de Monterrey. México, D. F., 1961.

Tratado de Química Inorgánica. (Con la colaboración de R. Illescas, J. I. Bolívar, G. Cortina, C. Islas,

J. Keller, M. Madrazo, E. P. Cancio, L. F. Piña, E. Soto y S. de la Torre). Ed. Porrúa, S. A. México, D. F., 1962.

Las ferrerías de los primeros veinticinco años del México Independiente. Ed. Compañía Fundidora de Fierro y Acero de Monterrey. México D. F., 1965.

La Química Inorgánica y el beneficio de los metales en el México Prehispánico y Colonial. Ed. Universidad Nacional Autónoma, México, D. F., 1966.

Andrés Manuel del Río y su obra científica (en colaboración con C. Prieto, M. Sandoval Vallarta y A. Arnáiz y Freg.) Ed. Compañía Fundidora de Fierro y Acero de Monterrey. México, D. F., 1966.

ENSAYOS Y ARTICULOS CIENTIFICOS MAS IMPORTANTES, PUBLICADOS DESDE 1940 A 1968

Lavoisier y el enigma de los cuatro elementos. *Romance*, México, D. F., 1º de mayo, 1940.

Evolución de la Química. *Química*. Núms. julio a septiembre. México, D. F., 1945.

La "Nueva Teórica y Práctica del beneficio de los metales de oro y plata", de don Joseph Garcés y Eguía. *Química*. Núms. abril a julio. México, D. F., 1946.

Sobre la evolución de las modernas definiciones de elemento químico y algunas sugestiones de carácter didáctico. *Ciencia, Méx.*, VII: 49-56, 1947.

Sobre la propuesta del término "hílido" en sustitución de "isótopo" en su acepción genérica, *Ciencia, Méx.*, VIII: 110-112, 1947.

La valencia como expresión numérica. *Ciencia*, Méx., IX: 7-14, 1948.

Revisión con fines didácticos de las definiciones de alotropía, isomería, polimería y polimorfismo. *Ciencia, Méx.*, X: 257-269, 1950.

Notas manuscritas de Andrés del Río. *Ciencia, Méx.*, X: 270-278, 1950.

Las fórmulas químicas: nota sobre las bases para una clasificación primaria. *Ciencia, Méx.*, XI: 311-316, 1951.

Nuevos yacimientos de Mammuthus y otros mamíferos en la región suroriental del lago de Chapala (México), *Ciencia, Méx.*, XII: 107-108, 1952.

Método de beneficio de los metales de oro y plata por fundición del mexicano Joseph Garcés y Eguía. *Ciencia, Méx.*, XII: 155-159, 1952.

Primer tratado compleo y sistemático del beneficio de patio de don Joseph Garcés y Eguía, metalúrgico mexicano. *Ciencia, Méx.*, XII: 199-206, 1952.

Bicentenario del "Curso de Quimicofísica" de Lomonosov. *Ciencia, Méx.*, XII: 208-209, 1952.

Ciento cincuenta aniversario de la "Cristalotecnia" de Nicolás Leblanc. *Ciencia, Méx.*, XII: 261-265, 1952.

Bartolomé de Medina y el beneficio de patio: algunos aspectos poco conocidos. *Boletín de la Sociedad Química del Perú*, XVIII: 101-108. Lima, 1952.

La terminología y las definiciones en la enseñanza de la Química. *Memoria del Congreso Científico Mexicano*, II: 9-45, y *Ciencia, Méx.*, XIII: 43-52, 109-118, 1953.

Una revisión de conocimientos químicos, la estructura de las sustancias y la enseñanza de la Química General e Inorgánica. *Bol. Soc. Química del Perú*. XIX: 3-114. Lima, 1954.

Programa de Química General e Inorgánica, basado en la estructura de las sustancias y destinado a un curso teórico, universitario o equivalente. *Bol. Soc. Química del Perú*. XIX: 15-43. Lima, 1953.

Los cationes binarios de nitrógeno y oxígeno. *Ciencia, Méx.*, XIII: 257-263, 1954.

El cuarto centenario del beneficio de patio debe celebrarse en 1955. *Novedades* (México en la Cultura), México, D. F., 28 de febrero, 1954.

Composición y constitución del ácido nítrico; de las ideas de Mayow a la teoría de Hantzsch. *Ciencia y Tecnología*. Unión Panamericana. IX: 149-158. Washington, 1954.

Ideas actuales sobre la arquitectura del ácido nítrico y la constitución de sus soluciones. *Ciencia y Tecnología*. V: 13-24. Washington, 1955.

La amalgamación de minas de plata en Nueva España en la segunda mitad del siglo XVI. *Ciencia, Méx.*, 216-218, 1955.

Las investigaciones de Fausto de Elhuyar sobre amalgamación de las menas de plata. *Ciencia, Méx.*, XV: 261-264, 1955.

El beneficio de amalgamación de las menas de plata de Bartolomé de Medina: primeras modalidades en Nueva España y en el Reino del Perú. *Revista Soc. Mexicana de Historia Natural*. XVII: 99-120. México, D. F.

En el centenario de la muerte de Avogadro: páginas de Dalton y Avogadro sobre la teoría atómica y molecular. *Ciencia e Investigación*. XIII: 109-117. Buenos Aires, 1957.

Una lección de Estanislao Cannizzaro sobre pesos moleculares y atómicos. *Bol. Soc. Química del Perú*. XXIV: 49-59. Lima, 1958.

Ideas e investigaciones clásicas y modernas sobre la composición y estructura del ácido sulfúrico y sus soluciones. *Ciencia, Méx.*, XVIII: 7-20, 1958.

Los ensayos con agujas y piedra de toque según los "Probierbüchlein" y las obras de Agrícola y Ercker, del siglo XVI. *Ciencia, Méx.*, XVIII: 141-146, 1958.

La arquitectura del ión sulfato y la constitución de las soluciones del ácido sulfúrico. *Ciencia, Méx.*, XIX: 229-242, 1959.

Una introducción a la enseñanza y a los textos didácticos de Química Descriptiva. *Bol. Soc. Química del Perú*. XXV: 37-45. Lima, 1959.

Le College des Mines de la Novelle Espagne. *Nouvelles du Méxique*. Nu; 17. París, 1959.

La estructura del agua líquida: ideas clásicas y modernas. *Acta Politécnica Mexicana*. I: 271-280. México, D. F., 1959.

Río de la Loza, analista de los conceptos químicos. *Ciencia, Méx.*, XX: 151-154, 1960.

Ejemplar de la edición alemana, 1780, del libro de Cronsteds, "Mineralogía", con abundantes notas manuscritas del traductor (?) A. G. Werner. *Revista de la Soc. Química de México*. IV: 21-26. México, D. F., 1960.

Conveniencia de sustituir el nombre "vanadium" por el de "erythronium". *Rev. Soc. Química de México*. IV: 199-200. México, D. F., 1960.

Los esposos Curie, la radiactividad y el descubrimiento del radio. *Acta Politécnica Mexicana*. II: 559-564. México, D. F., 1961.

Sobre la introducción en el Reino del Perú del método de amalgamación de Medina. Tomo I de Memoria *del Primer Coloquio Mexicano de Historia de la Ciencia*. México, D. F., 1964.

Ideas de Andrés Manuel del Río sobre la composición de las sustancias. *Bol. Soc. Química del Perú*. XXX: 83-92. Lima, 1964.

Don Andrés Manuel del Río, indiscutible descubridor del eritronio (vanadio). (*Rev. Soc. Química de Méixco*. VIII: editorial. México, D. F., 1964.

Andrés Manuel del Río y Fernández, descubridor del vanadio (eritronio). *Acta Politécnica Mexicana*. VI: 233-237. México, D. F., 1964.

Andrés Manuel del Río en el bicentenario de su nacimiento, 1764. (Su labor geológica, mineralógica y minerometalúrgica). *Rev. de la Soc. Mexicana de Historia Natural* XXV: 255-261. México, D. F., 1964.

Ceremonia en el Palacio de Minería de México: intervenciones de Carlos Prieto, Manuel Sandoval Vallarta, Modesto Bargalló y Arturo Anáiz y Freg. *Ciencia, Méx.*, XXIII: 185-200. México, D. F., 1965.

Andrés Manuel del Río, descubridor del vanadio. Ciencia *Interamericana*, O.E.A. Vol. VI: 9-10. Washington, 1965.

Los nombres "Química General", "Quimicofísica" y "Química Teórica" como titulares en obras didácticas. *Ciencia, Méx.*, XXIII: 245-249, 1965.

Contribución al análisis del concepto "Quimicofísico" y observaciones sobre el uso de los titulares "Química General", "Química Teórica" y "Quimicofísica" en la enseñanza. *Bol. Soc. Química del Perú*. XXXI: 108-116. Lima, 1965.

Algunos libros alemanes sobre mineralogía, Metalurgia, Química y Física de los años 1794 a 1818, procedentes de la biblioteca de don Lucas Alamán. *Rev. Soc. Química de México*. IX: 230-231. México, D. F., 1965.

Dos cartas de Enrique Garcés al virrey del Perú y a Felipe II, sobre la contratación del azogue y la ley de la plata. *Ciencia, Méx.*, XXV: 33-36, 1966.

La Química Inorgánica y el beneficio de los metales en el México Prehispánico y Colonial (discurso). *Revista del Instituto Mexicano de Ingenieros Químicos*. VII: 2-6, 1966.

Contribución con 125 entradas sobre biografías, minería, beneficio de metales y algunos términos geográficos o históricos, en el *Diccionario Porrúa de historia, biografía y geografía de México: Suplemento*. México, D. F., 196.

El beneficio de amalgamación de patio: originalidad, paternidad, y primeras modalidades en México (discurso). *Ciencia, Méx.*, XXV: 177-184, 1967.

Sobre la iniciación en México de la modalidad "de patio" en el beneficio de amalgamación de Bartolomé de Medina: un manuscrito de Eugenio de Salazar (1584-1585). *Rev. Soc. Química de México*. XI: 111-114, 1967.

MICHAELIS FARADAY, Primer centenario de su muerte (1791-1867). *Bol. Soc. Quím. Perú*, 33 (3): 103-110, 1967.

La guaira, horno de fundición del Antiguo Perú, estudio de las referencias de los cronistas. *Ciencia, Méx.*, 26 (1): 31-38, 1968.

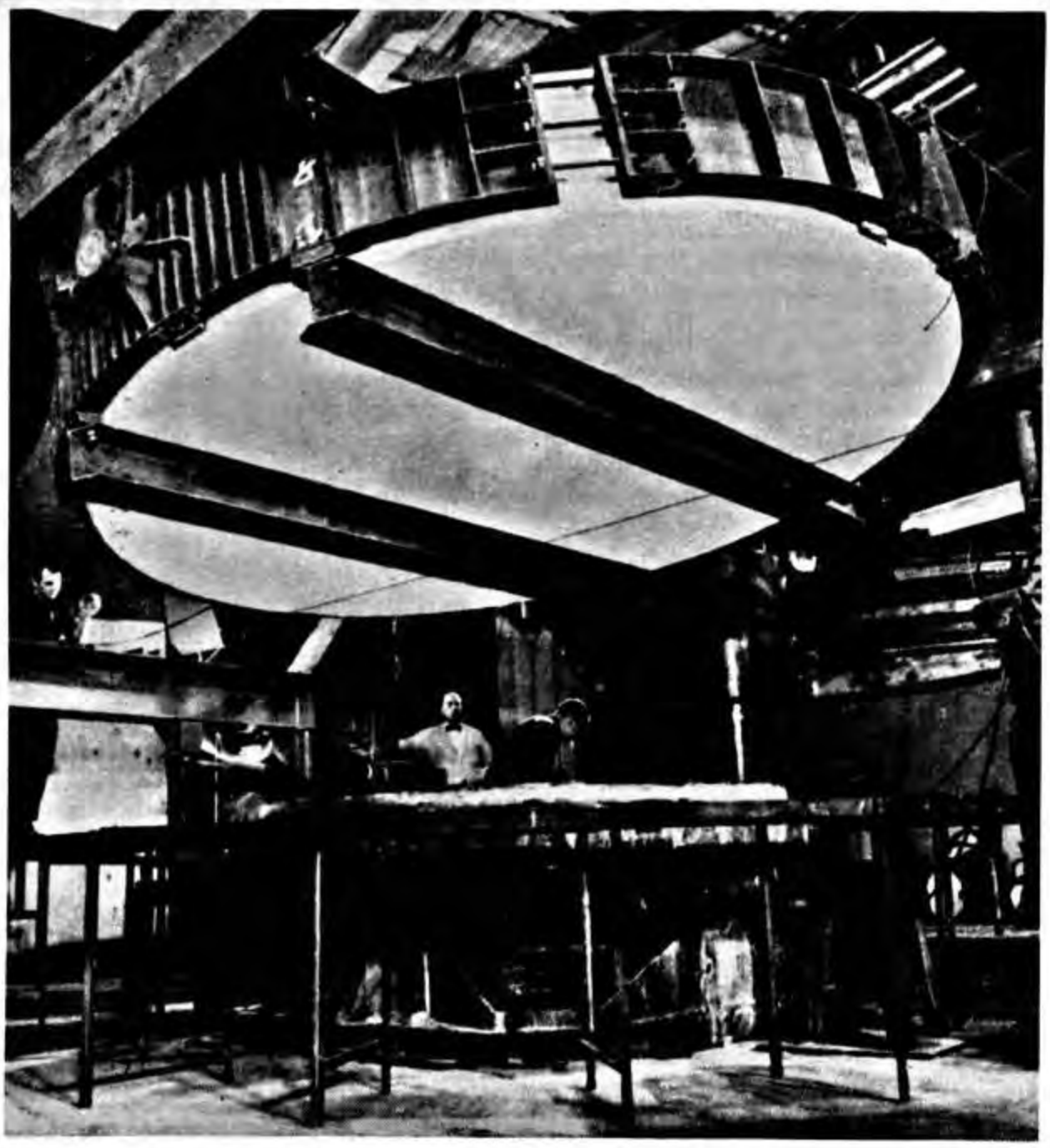
PIEZA DE SILICE FUNDIDA EN BRUTO, DE 366 CM, DEL ESPEJO PARA EL OBSERVATORIO MERIDIONAL EUROPEO EN CHILE [1]

La firma Corning Glass Works ha terminado la gigantesca pieza de sílice fundida en bruto, de 366 cm de diámetro, para el espejo del telescopio del Observatorio Meridional Europeo (OME).

Esa pieza en bruto para el espejo, que es la pieza de sílice fundida más grande que se haya hecho jamás, será el elemento óptico principal de uno de los mayores telescopios del mundo.

Su espesor es de 51 cm y su peso alrededor de 11,5 toneladas métricas.

El telescopio gigantesco del OME será erigido en la montaña La Silla (de Chile), a cerca de 65 Km al norte de Vicuña y a 30 Km al Noreste de La Serena. Ese lugar, escogido después de minuciosos estudios de varias regiones del Africa y América Meridionales, está a 2,400 metros de altitud.



Un ingeniero de la Corning Glass Works vigila cuidadosamente cuando se está levantando de la mesa de rectificación y volteado la pieza en bruto de sílice fundida del espejo de 366 cm de diámetro para el Observatorio Meridional Europeo, durante las labores iniciales del acabado en la fábrica McKean de la Corning en Bradford, Pa. (EE. UU.). El enorme disco de 51 cm de grosor y con un peso de 11 y media toneladas métri cas, es la mayor pieza de sílice fundida que se haya hecho jamás. El espejo del telescopio de 508 cm del Monte Palomar, en California, es el único disco de telescopio de mayor tamaño en existencia. La Corning moldeó dicho espejo de vidrio de borosilicato, de 508 cm, en 1934.

La pieza en bruto de 366 cm está virtualmente exenta de esfuerzos. Las lecturas del polarímetro indican en todo el espejo una birrefringencia de menos de 10 myl por cm y, según manifiesta la Corning, las lecturas de birrefringencia de 20 mμ ó menos son consideradas como buenas y las de 10 mμ ó menos, como excelentes.

[1] Agradecemos al Public Relations Department, de la Corning Glass Works de Corning Nueva York, el habernos enviado los datos y fotografía que publicamos y que van a hacer llegar a los lectores de CIENCIA un punto científico tan interesante.—C. B. P.

La rectificación y el pulido de esa pieza para espejo telescópico está a cargo de Reosc, —una firma de instrumentos ópticos de París—, calculándose que esos trabajos durarán de dos a tres años. La Corning efectuó las labores iniciales del acabado para preparar la pieza en bruto para los cálculos ópticos finales y el pulido. Esas labores comprendieron rectificar la curva de la periferia, cortar un agujero central de 71 cm de diámetro, aplanar el fondo del disco y darle a la superficie superior la curvatura aproximada requerida en el espejo acabado.

El Observatorio Meridional Europeo es la culminación de un esfuerzo que comenzó en 1953, el cual dio como resultado, en 1962, un convenio entre Bélgica, Francia, Alemania Occidental, Holanda y Suecia para construir un observatorio astronómico común en el hemisferio meridional para estudiar regiones del cielo relativamente inexploradas.

Casi todos los observatorios del mundo provistos de telescopios grandes están situados en el hemisferio septentrional. El Observatorio Meridional Europeo es uno de los varios proyectos recientes para construir observatorios importantes en el hemisferio meridional. Se comenzó a edificar el observatorio en 1965 y se terminará en dos etapas: la primera de 1968 a 1969 y la segunda, con el telescopio grande, de 1971 a 1972.

Los dos telescopios más grandes actualmente en uso son el Hale, de 508 cm, en el Monte Palomar (en el sur de California), y el de 305 cm en el Monte Hamilton (cerca de San Francisco). Los espejos principales de 508 cm y de 305 cm fueron moldeados por la Corning en 1934 de vidrio de borosilicato marca Pyrex.

La sílice fundida Clave 7940 de la Corning es un material aún mejor para espejos, pues es uno de los más puros hechos por el hombre, siendo su régimen de expansión térmica (5,6 x 10^{-7} cm/cm/°C) de sólo como una quinta parte de la del vidrio de borosilicato empleado en el telescopio Hale (cuya expansión es de 26 x 10^{-7}). Esto significa que el espejo tendrá un cambio dimensional mínimo bajo las más graves variaciones de temperatura, asegurando así imágenes mejores.

La pieza en bruto de 366 cm fue hecha con 78 pedazos de sílice fundida, los que fueron casados unos con otros como un rompecabeza gigante y luego calentados para fundirlos y formar un disco monolítico compuesto de seis capas, con siete componentes hexagonales y seis triangulares por capa.

Esta técnica permite escoger las piezas que tengan las mejores cualidades ópticas para la superficie superior del espejo, la cual es luego rectificada y pulida según una curva óptica precisa y después aluminizada para formar un reflector.

En un telescopio de reflexión la luz no pasa a través del vidrio, pues la superficie curvada a precisión y pulida según tolerancias de unas pocas milésimas de milímetro, es revestida con una delgada capa de aluminio.

Los espejos grandes utilizados en tales telescopios sirven no tanto para aumentar la imagen como para recoger tanta luz como sea posible de manera de poder estudiar los cuerpos celestiales más opacos.

Además de su excelente homogeneidad, su poca birrefringencia y su bajo régimen de expansión térmica, la sílice fundida es también más fácil de rectificar y pulir que la mayoría de los materiales para espejos, según afirma la Corning. Su gran transparencia permite asimismo la minuciosa inspección óptica para verificar el "recocido" del espejo, o sea, la disminución de los esfuerzos internos que algunas veces se crean durante la formación del vidrio.

Se puede obtener más amplia información de la Corning Glass International, S. A., una subsidiaria de la Corning, cuyas oficinas están en 4685 Ponce de León Boulevard, Coral Gables (Florida).

Libros nuevos

TRUJILLO, G. P., *Bibliografía de la Baja California. Primer tomo,* 145 pp., Editorial Californidad. Asociación de Escritores de Baja California. Tijuana, B. C. (México). 1967 (20 pes. mex.).

Esta Bibliografía es la tercera que se publica sobre la Baja California. La primera fue hecha en 1937 por Joaquín Díaz Mercado con 966 referencias bibliográficas. La segunda, de Ellen C. Barret fue editada en 1957 con 2 873 referencias y ampliada por la misma autora en 1967, con un segundo tomo que eleva a 4 838, el número de referencias de la obra completa.

La Bibliografía de la Baja California, del Ing. Trujillo, tiene como principal ventaja que dará a conocer, principalmente al público de Baja California, el interés que desde la época de la Colonia han tenido por dicha península los especialistas en diversas ramas, como la botánica, la fauna marina y terrestre, la geología, historia, etc. Esto es consecuencia de que en sus condiciones naturales, esa península con sus mares inmediatos es uno de los lugares más extraordinarios de la tierra.

Aun cuando desde mediados del siglo pasado la mayor parte de esos estudios han sido hechos por estadounidenses, ha habido también aportaciones importantes de autores mexicanos. Las obras geográficas, históricas y antropológicas más valiosas fueron escritas en la época colonial.

Seguramente al conocerse la Bibliografía del Ing. Trujillo, la cual abarca 1 160 referencias, aumentará el interés que por esa península tienen varios intelectuales mexicanos quienes han formado la Asociación de Escritores de Baja California. Es de esperar que ese estímulo se extienda a los centros educativos y que la Bibliografía del Ing. Trujillo que tiene apenas un costo de 20 pesos mexicanos, forme parte de las bibliotecas escolares de Baja California, para ponerla al alcance del profesorado de esa región.

En un plano más elevado es de sugerir que los Gobiernos tanto del Estado, como del Territorio de Baja California, dediquen una partida anual importante para que las Bibliotecas Públicas de La Paz, Ensenada, Tijuana y Mexicali, puedan adquirir aquéllas obras cuyo costo total no está al alcance de las sociedades particulares o de los individuos. Se comprende que de esta clase de libros que tienen una demanda limitada, se publique un número corto de ejemplares los que tienen que venderse a un precio elevado, el que aumenta mucho más al agotarse las ediciones. En lo referente a los artículos de las revistas, éstos se podrán obtener gradualmente por medio de aparatos copiadores, con mira a que en el futuro se encuentre en esas cuatro bibliotecas, todo lo que se ha publicado sobre la península.—LUIS MAZZOTTI.

DECHEMA-MONOGRAPHIEN, *Zerkleinern 34 Vorträge Symposium in Amsterdam 1966, Band 57, Nos., 993-1026, Teil 1-2 (Recopilación de las 34 conferencias y discusiones sustentadas en Amsterdam en 1966).* 448 y 893 pp. Verlag Chemie Gmbh. Weinheim, 1967.

Tenemos a mano en dos volúmenes el informe de la recopilación de las 34 conferencias y discusiones sustentadas en Amsterdam (20 a 23 de septiembre de 1966), durante el 2º simposio europeo sobre "Disgregación". Editado por los Profs. H. Rumpf y W. Pietsch de Karlsruhe, Dechema (Sociedad Alemana para Aparatos y Maquinaria Química), ha continuado con sus monografías Investigación y desarrollo en el campo del equipo químico- —monografías iniciadas por M. Buchner (+) y H. Bretshneider.

Verlag Chemie Gmbh presenta, en la forma tradicionalmente perfecta e intachable, las notables e interesantes publicaciones expuestas en el curso de la importante reunión mencionada. En ambos tomos, en la forma más completa, con excelentes dibujos, esquemas y diagramas y material tabular, se nos presenta el rico material en las siguientes divisiones:

A) Fenómenos de la ruptura y fragmentación de partículas aisladas (6 confs.).

B) Cinética de la disgregación (8 confs.).

C) Influencia de la estructura superficial (2 confs.).

D) Efectos especiales físicos y químicos en la desintegración (5 confs.).

E) La disgregación con energía térmica y eléctrica (2 confs.).

F) Investigación científica y perfeccionamiento de las máquinas disgregadoras (11 confs.).

De los 34 títulos de las dos partes presentaremos a continuación algunos, demostrándose a la vez la confraternidad del congreso, mediante participación de gran número de representantes de diferentes naciones. Nos parece imperativamente necesario intervenir ante la sede de Dechema para que en lo futuro se redacten los resúmenes también en castellano —hasta la fecha se ha hecho en francés e inglés—, debido al alto valor común de las conferencias y ponencias presentadas para su mejor divulgación a los interesados de habla española:

H. E. Rose (Londres): Una teoría compresiva del proceso de disgregación.

P. Habib, D. Radenkovic, J. Salençon (París): Ruptura de rocas entre las placas de una presa.

T. S. Mika, L. M. Berlioz, D. W. Fuerstenau (EE. UU.): Una aproximación.—J. ERDÓS.

ARMENDARES S. *Citogenética humana normal y patológica,* 255 pp. Editor Interamer., S. A. México, 1968.

Es muy agradable dar la bienvenida a un libro bueno pensado en México, escrito en México y editado en México... sobre todo cuando como en este caso el libro está bien pensado, bien escrito y bien editado. Ello nos enorgullece a todos y nos redime un poco de nuestro pecado de favoritismo de la cultura universal.

Lo que destaca en este libro es el equilibrio. Nada está en demasía. Equilibrio entre bioquímica y citología; entre genética normal y patológica, entre conceptos clásicos y modernos, entre contenido teórico y práctico... hasta guarda el equilibrio aurico la dimensión de los capítulos y su alegato bibliográfico nunca resulta excesivo ni deficiente. Todo está en su punto.

En la contraportada interior anexan los editores, dos colaboradores: J. González Ramírez y J. Sáenz, que formaron al lado del joven autor Salvador Armendares y

Sapera. Aunque luego no se especifica en qué momento intervienen los colaboradores, no hay que ser malicioso para adivinar que su principal aportación se hace en los capítulos primeros. Pero el libro tiene suficiente unidad —equilibrio— para aparecer como escrito de una sola mano.

Tiene especial interés el capítulo quinto dedicado a "Términos para estudio de cromosomas" porque es poco frecuente encontrar métodos de trabajo en libros de esta naturaleza. Por lo regular debe uno basarse en tratados especializados en técnicas de laboratorio y en tal caso se pierden dos cosas fundamentales; concisión e intención, muy bien logrados en este capítulo modelo de resumen y claridad. En la pág. 37 habla de "cosecha" de leucocitos, y es natural que después del "cultivo" de sangre venga la *cosecha*, pero a nosotros nos sonaría mejor "recolección" de leucocitos, o simplemente *obtención*.

Esquemas claros y bien elegidos. Dicción transparente y al alcance de todos. Impresión modélica como acostumbra la Editorial Interamericana, con sus inevitables *liebres* que escapan a toda primera edición. Esto no nos preocupa ni un tanto así porque auguramos para muy pronto una segunda edición corregida y no aumentada para que no pierda estas proporciones tan acertadas que hemos resumido bajo el epígrafe de un *libro equilibrado*.

Una felicitación sincera para los autores y para los editores.—ANTONIO ORIOL ANGUERA.

BERRIL, N. J., *Biología en movimiento* (*Biology in action*), 878 pp. Ed. Heinem. Educat. Books LTD. Londres, 1967.

De diez años a esta parte han llovido biologías de corte moderno. Empezó Paul B. Weiss (The Science of Biology) con una presentación atrevida (modulor cuadrangular) y un vocabulario con acento bioquímico y molecular. El éxito fue extraordinario y los imitadores surgieron por doquier. Hoy no queda un editor que no tenga "su" biología. Y todos estos trabajos "modernos" están cortados por el mismo patrón. Citaremos tres ejemplos notorios... entre treinta: "The Study of Biology" de J. J. W. Baker y G. E. Allen (Ed. Addison-Wesley Publishing (Company). "Biology" de W. L. Smallwood y E. R. Green editada por Silver Bwcott Company. "Texbook of Modern Biology" de A. Nason editado por John Wiley and Sons.

Insistimos en que podríamos haber citado otros treinta títulos; todos más o menos iguales; capítulos cortos, bien ilustrados, lista de "questions" al final de cada capítulo y una bibliografía modesta extraída fundamentalmente del Scientific American. Si nos obligaran a destacar dos títulos por encima de los demás, sin vacilar declararíamos "ganador" al de Baker y Allen y "colocado" al de Smallwrod y Green, es decir los dos que intencionalmente hemos citado en primer lugar.

¿Por qué comentamos aquí, precisamente la Biology in action de N. J. Berrill? Porque se sale un poco de la línea. Se nos presenta con cierta rebeldía, como nos lo hace prever el título. Todo él tiene un aspecto dinámico. En todos los niveles acentúa la tendencia metabólica y energética. Se aparta de las estructuras en la medida que se acerca a las funciones.

Un poco más extenso que los otros (alrededor de 900 páginas y mayor formato) pretende abarcar los alumnos del "College" y de la Universidad. En fin, para atender a unos y otros divide el libro en tres niveles; célula; organismo; comunidad.

Estudia la célula in "action" de los capítulos 2 al 10, el organismo *in action* del 11 al 31 y las comunidades en el espacio y en el tiempo en los capítulos 32 al 39. Todavía sigue con tres capítulos finales (40 - 41 - 42) que dedica a la "edad del hombre'. Esta nivelación tripartita permtie hacer combinaciones según que los estudiantes sean de College Superior, iniciados o Universitarios... naturalmente de acuerdo con los programas del AIBS.

A pesar de todo si tuviéramos que votar para elegir un libro destinado a nuestros estudiantes preparatorianos o vocacionales seguiríamos aconsejando el Baker y Allen o el Smallwood y Green. Aquel, incluso para los que se inician en estudios de nivel universitario.—ANTONIO ORIOL ANGUERA.

LIBROS RECIBIDOS

FLORKIN, M. y B. T. SCHEER, *Chemical Biology, Vol. Protozoa*, ed G. W. Kidder, XVI-912 pp., illustr. Acad. Press. Nueva York, 1967 (38 dóls.).

MINGOIA, QUINTINO, *Química farmacêutica*, 787 pp. Edit. Universidad de San Pablo (Brasil), 1967.

BUDZIKIEWICZ, H. y C. DJERRASSI, *Mass spectrometry of organic compounds*, 990 pp. Holden-Day, Inc. San Francisco, 1967 (19,75 dóls.).

WOOD, C. W. y A. K. HOLLIDAY, *Physical Chemistry*, 3a. ed., 351 pp., ilustr. Butterworths. Londres, 1967 (25 chels.).

SHGAR, D. ed., *Genetic elements, properties and function*, IX, 361 pp., illustr. Symposium held on occasion the meeting Federation Europea Biochemical Society, Varsovia. Academic Press. Londres, 1947 (84 chels.).

MARSHALL, N. B., ed., *Aspects of Marine Zoology*, 270 pp., illustr, The Zool. Soc. y Acad. Press. Londres 1967 (80 chels.).

WOOD, C .W. y A. K. HOLIDAY, *Physical Chemistry*, 3a. ed., 365 pp. Butterworths. Londres, 1967 (25 chels.).

BUDZIKIEWICZ, H., C. DJERASSI y D. H. WILLIAMS, *Mass spectrometry of organic compounds*, 690 pp., illustr. Holden-Day, Inc. San Francisco, 1967.

GORDON, M., ed., *Psychopharmacological Agents*, Vol. II, 622 pp., illustr. Acad. Presss, 1967 (25 dols.).

BERRIL, N. J., *Biología en movimiento* (*Biology in action*), 878 pp. Ed. Heinem. Educat. Books LTD. Londres, 1967.

CAL-C-VITA*

ROCHE*

- **Sinergia constructiva**
- **aumenta la resistencia • acrecienta el rendimiento**

Vitamina C 1000 mg + Calcio 250 mg + Vitamina D 300 mg
Vitamina B_6 15 mg + Acido cítrico 1350 mg

REVISTA
LATINOAMERICANA DE MICROBIOLOGIA

EDITADA POR LA ASOCIACION MEXICANA DE MICROBIOLOGIA

PUBLICA ARTICULOS ORIGINALES SOBRE:

- Microbiología
- Parasitología
- Inmunología
- Fisiología y Bioquímica Microbiana
- Microbiología Médica y Veterinaria
- Microbiología Sanitaria
- Microbiología Agrícola e Industrial
- Virología
- Antibióticos

APARECEN 4 NUMEROS ANUALES Y DOS SUPLEMENTOS
CADA NUMERO INCLUYE UN ARTICULO DE REVISION SOBRE UN TEMA SELECTO

LA SUSCRIPCION POR UN AÑO IMPORTA $75.00 M. N. (DLLS. $6.00) 2 AÑOS $135.00
PARA EL EXTERIOR 1 AÑO U.S. 6.00, 2 AÑOS U.S. 11.00

Toda correspondencia debe ser enviada a:
Dr. Adolfo Pérez-Miravete

Revista Latinoamericana de Microbiología
Apartado postal 4-862
México 4, D. F., México.

ZOOLOGICAL RECORD

El *Zoological Record*, que se publica cada año por la Sociedad Zoológica de Londres, y analiza todos los trabajos zoológicos que aparecen en el mundo, puede adquirirse al precio de 7 libras esterlinas (unos 240 pesos mexicanos). Si el importe de la suscripción se envía antes del 1º de julio se obtiene una reducción quedando rebajado a 5½ libras (220 pesos).

Son muchos los zoólogos especializados que no desean adquirir el *Record* completo, y en cambio están muy interesados por las partes referentes al grupo o grupos en que se han especializado, a más de las de carácter general, y por ello el *Record* se vende en partes aisladas, cuyos precios en chelines son los siguientes (incluidos en cada uno el costo de envío).

Zoología general	chelines	5	0	Trilobita	chelines	8	0
Protozoa	„	15	0	Arachnida	„	14	0
Porifera	„	3	0	*Insecta	„	80	0
Coelenterata	„	5	0	Protochordata	„	3	0
Echinodermata	„	4	0	Pisces	„	15	0
Vermes	„	14	0	Amphibia	„	12	0
Brachiopoda	„	4	0	Reptilia	„	12	0
Bryozoa	„	3	0	Aves	„	13	0
Mollusca	„	21	0	Mammalia	„	18	0
Crustacea	„	12	0	Lista de nuevos géneros y Sub-géneros	„	5	0

* La parte de Insecta puede obtenerse sólo del Commonwealth Institute of Entomology, 56, Queen's Gate, Londres S. W. 17.

Las suscripciones a grupos diversos (excepto los Insecta) y otras informaciones referentes al *Zoological Record* deben ser dirigidas a The Secretary, Zoological Society of London, Regent's Park, Londres, N. W. 8.

ediciones de la
UNIVERSIDAD

LIBROS DE RECIENTE APARICION

EL TIEMPO EN LA BIOLOGIA

por J. B. S. Haldane $ 6,00

INFORMACION BIOLOGICA E INFORMACION

por R. Lavocat $ 3,50

LA PROPORCIONALIDAD ENTRE LOS HUESOS LARGOS Y SU RELACION CON LA ESTATURA EN RESTOS MESOAMERICANOS

por Santiago Genovés $ 15,00

EL PAPEL DE LA CIENCIA PURA EN LA CIVILIZACION EUROPEA

por Cecil F. Powell $ 5,00

ANALES DE ANTROPOLOGIA, VOLUMEN IV — 1967

por el Instituto de Investigaciones Históricas $ 40,00

CARACTERISTICAS FISICAS DE LA FAMILIA LINGÜISTICA MAYA

por Juan Comas $ 30,00

HAGA SUS PEDIDOS A

LIBRERIA UNIVERSITARIA

Ciudad Universitaria México 20, D. F. Tel. 48-65-00 Ext. 125 429 493

Y OTRAS LIBRERIAS

CIENCIA

Revista Hispano-americana de Ciencias puras y aplicadas

TRABAJOS QUE SE PUBLICARAN EN EL NUMERO 2 DEL VOL. XXVI DE "CIENCIA" Y SIGUIENTES:

ENRIQUE BELTRAN, Las Reales Expediciones Botánicas del Siglo XVIII a Hispanoamérica.

XORGE A. DOMINGUEZ, Sobre componentes del ocotillo (Fouqueria splendens).

MARTA BARNA y ALEJANDRO F. JIMENEZ, Determinación de Niveles de Presión de Banda, para distintas frecuencias, a igual índice de sonoridad en MARK VI (Electroacúst.).

E. VILLALOBOS y L. E. SANCHEZ-TORRES, Recombinación genética entre bacteriófagos.

FRANCISCO SANCHEZ-VIESCA, Síntesis y espectroscopía de nuevos derivados del asaraldehido, Parte IV.

J. ERDOS y J. Y. ANGUIANO, El ácido clorosulfónico como catalizador en la esterificación. XX.—La esterificación del ácido nicotínico.

A. BARRERA, Redescripción de Amblyopinus schmidti *Seevers (Ins. Col., Staphyl.)*

MODESTO BARGALLO, El aspecto metalúrgico en los "Comentarios a las Ordenanzas de Minas", del abogado Jalisciense Francisco Javier de Gamboa.

J. BUTTERLIN, Claves para la determinación de Macroforaminíferos de México.

ERIC G. MATTHEWS and GONZALO HALFFTERT, New data on american Copris *with discusión of a fossil species (Coleopt., Scarab.).*

JUAN C. STOCKERT, Estructura de los cromosomas paquiténicos en espermatocitos de ratón.

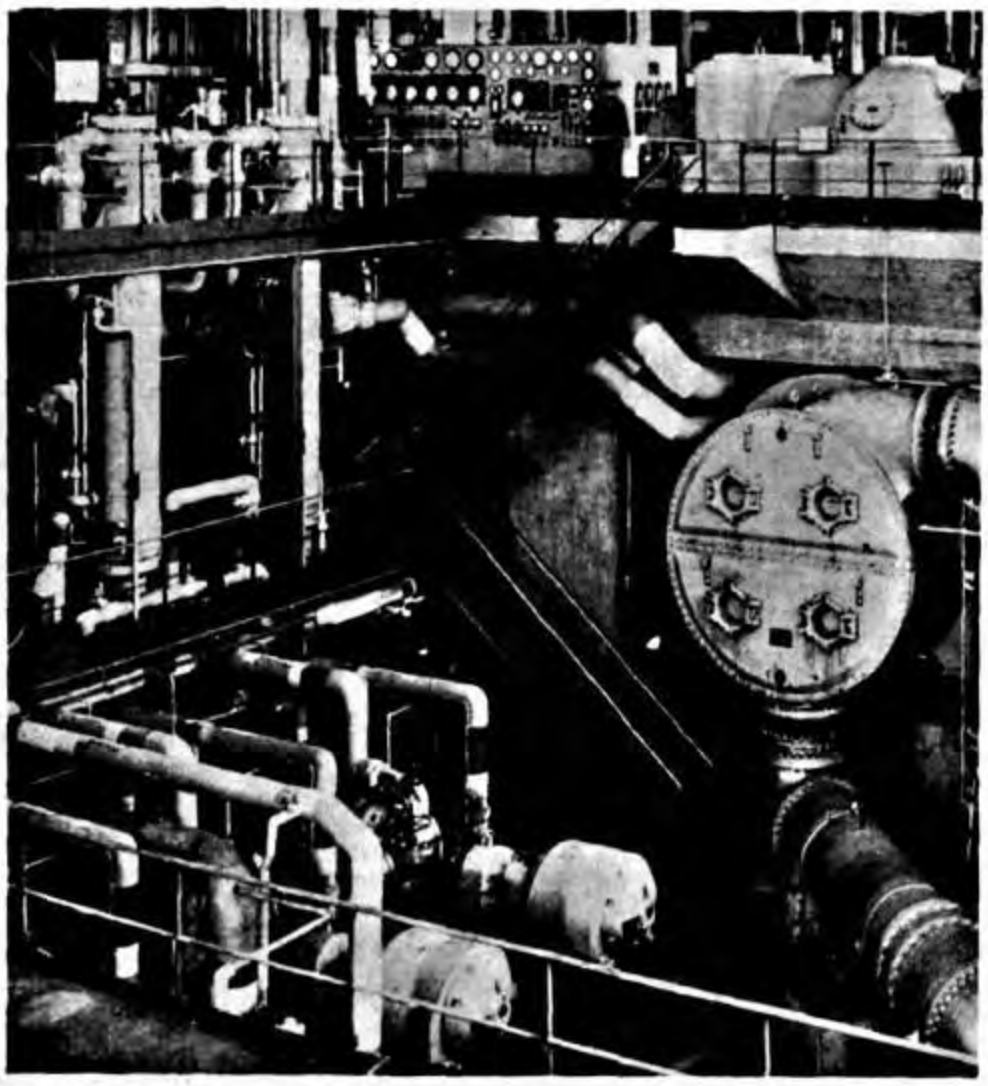
JORGE HENDRICHS, Diferencias ecológicas y topográficas entre los 2 Trechus *conocidos del Centro de México (Col., Carab.)*

BERNARDO ROTGER VILLAPLANA, Estudio de una nueva subespecie de Paratrechus osorioi *de Jacala (Hid., Mex.)*

PUBLICACION BIMESTRAL DEL PATRONATO DE CIENCIA DE MEXICO
Impreso en la Editorial Muñoz, S. A., México 7, D. F.
Publicada desde 1940.
Dirección General de Derechos del autor. Licitud Oficio núm. 90, Exp. CC FRI/68 de 30 de enero de 1968.
Reservados todos los derechos por la Revista Ciencia de México.
Se prohibe la publicación parcial o total sin autorización escrita.

Sus cartas serán oportunas si utiliza el servicio de entrega inmediata.

EN LA INDUSTRIA



acero

En toda actividad fabril está presente el acero. Su buena calidad es indispensable para el desarrollo de la industria moderna. El empleo de ACERO MONTERREY, que se fabrica con la maquinaria más moderna y el respaldo de 65 años de experiencia en la producción de acero en México, es una garantía para la fabricación, cada vez, de mejores productos metálicos.

COMPAÑIA FUNDIDORA DE FIERRO Y ACERO DE MONTERREY, S.A.

Las láminas ACERO MONTERREY garantizan con su calidad las necesidades de la industria de muebles y aparatos para el hogar. Y es que la lámina ACERO MONTERREY se fabrica con la maquinaria más moderna, bajo sistemas de control electrónico y con el respaldo que significan 60 años de experiencia en la fabricación de acero en México.