



RASC

Real Academia
Sevillana de Ciencias

La sal, el hombre y los microorganismos

discurso pronunciado por el

Excmo. Sr. D.

Francisco Ruiz Berraquero

en el acto de recepción como académico numerario

el día 16 de noviembre de 1999

y

contestación del académico numerario

Excmo. Sr. D.

Manuel Losada Villasante

LA SAL, EL HOMBRE Y LOS MICROORGANISMOS

*Discurso pronunciado por el
Excmo. Sr. D. FRANCISCO RUIZ BERRAQUERO,
en el Acto de su recepción como Académico Numerario
celebrado el día 16 de noviembre de 1999*

*Ten siempre a Itaca en la memoria,
Llegar allí es tu meta.
Mas no apresures el viaje.
Mejor que se extienda largos años;
Y en tu vejez arribes a la isla
Con cuanto hayas ganado en el camino,
Sin esperar que Itaca te enriquezca.
Itaca te regaló un hermoso viaje.
Sin ella el camino no hubieras emprendido.
Mas ninguna otra cosa puede darte.
Aunque pobre la encuentres, no te engañará Itaca.
Rico en saber y vida, como has vuelto,
Comprendes ya qué significan las Itacas.*

CONSTANTINO KAVAFIS

Vivo esta solemne sesión del día de hoy con una mezcla encontrada de sentimientos.

La profunda satisfacción que experimento por el alto honor que representa convertirme en miembro numerario de esta Real Academia Sevillana de Ciencias se ve empañada y no poco por el temor a que mi discurso no esté a la altura que merece la institución. Este temor se ve además acentuado por el retraso tan prolongado con que procedo a su lectura. Esta lectura solo ha sido posible gracias a la extremada benevolencia de los ilustrísimos señores académicos, representados tan justamente en la persona de su Presidente, el Profesor Márquez, quien estimó válidas las razones que aduje para tal aplazamiento.

A quienes me propusieron para la Academia; a quienes aprobaron la propuesta y a todos los académicos que la aceptaron, mis más sinceras gracias. También quiero hacer patente la firme intención de colaborar en el trabajo que se me encomiende en el futuro en la medida de mis conocimientos y capacidades.

Entiendo que mi presencia en esta institución se debe más a los méritos de quienes me han ayudado en mi vida personal y científica que a los propios. Incluyo a la familia; mi mujer e hijos, a los que fueron mis maestros y a los muchos colaboradores. Si algo de bueno hice, a ellos corresponde en su mayor parte.

Conocido ya el nombre de quien me va a contestar el discurso de ingreso: el profesor Losada Villasante, tengo que añadir un nuevo motivo de satisfacción. Por supuesto que, dada la calidad científica contrastada de todos ustedes, cualquier académico hubiera colmado sobradamente mis expectativas, pero no podía, por muchas razones: de paisanaje, de afinidad, de respeto a su persona y admiración por su trabajo, imaginar mejor designación.

Mis más sinceras gracias al Profesor Losada por aceptar responde a este discurso que se ve más valorado por venir con la valiosa compañía de su contestación.

El tema que elegí: “la sal, el hombre y los microorganismos” está relacionado con la que ha sido mi línea de trabajo de siempre: el halofilismo bacteriano.

Como quiera que, salvo escasas y brillantes excepciones, las aportaciones personales a una materia científica determinada son como unos pocos granos de arena entre los de una inmensa playa, he decidido exponer el tema en su más amplio contexto y solo al final me referiré brevemente a los pocos logros personales conseguidos junto a una síntesis de los resultados de quienes me acompañaron en algún momento en la tarea investigadora a lo largo de casi 25 años.

Para un químico inorgánico, la sal –a menudo llamada sal común para distinguirla de la clase de compuestos químicos denominada sales– es un cloruro: el cloruro sódico. Un compuesto iónico de fórmula ClNa ; un electrolito fuerte que en medio acuoso se encuentra disociado prácticamente al cien por cien.

Su nombre evoca de inmediato el importante papel que ejerce en la presión osmótica de los medios que la contienen. Sabemos también que la sal hace descender el punto de congelación del agua y eleva su punto de ebullición de acuerdo a su concentración. Algunas de las aplicaciones más usuales de la sal se deben a estas propiedades.

Para un cristalógrafo, el cloruro sódico es un mineral –halita o sal de roca– que cristaliza en el sistema cúbico; es una holoeдрía del sistema regular. Su red se puede describir como la que resulta del desplazamiento de dos redes cúbicas centradas en las caras, una de cloro, la otra de sodio, la mitad de la arista del cubo, resultando una red de coordinación 6:6 en la que cada cloro está rodeado de seis sodios y cada sodio de seis cloros dispuestos en los vértices de un octaedro regular. Presenta una exfoliación casi perfecta según la cara de cubo (100). Número dos de la escala de Mohs, tiene un peso específico de 2,1 a 25° C.

Para el geólogo, representa probablemente la sustancia natural en estado puro más abundante sobre la tierra. Se encuentra en el mar en una proporción del 3% lo que convierte este medio en un reservorio de sal de proporciones inimaginables (30 kilogramos

por méetro cúbico); porcentaje todavía superado en los medios hipersalinos como los lagos y mares salados. Se presentan en zonas de gran insolación, con temperaturas altas y por tanto con evaporación muy fuerte y un aporte de agua relativamente pequeño. Una situación de esta naturaleza, a lo largo del tiempo da lugar a lagos de salinidad extraordinariamente elevada, como el Gran Lago Salado en USA, en el que la concentración de cloruro sódico alcanza el 32 %.

Aparece como mineral: sal gema o halita, como resultado de la desecación de los mares, habiendo producido a lo largo de los tiempos geológicos los numerosos yacimientos salinos existentes en distintos lugares de la tierra, como los tan conocidos de Suria y Cardona en Cataluña.

A un biólogo le hace recordar que de los océanos surgió la vida sobre la Tierra. No es de extrañar por ello que las células de los seres vivos reflejen esa composición del agua de mar y posean cantidades importantes de cloruro sódico.

La sal, constituye por ello un elemento esencial en la nutrición de los seres vivos incluido el hombre que requiere del orden de 20 g por día de este compuesto. El cloruro sódico tiene un papel trascendente en la célula, contribuyendo tanto a la regulación de la presión osmótica como a acciones específicas de sus iones, participando en numerosas reacciones y mecanismos bioquímicos imprescindibles. Particularmente interesante es su papel en los procesos de transporte a través de membranas.

La sal de mesa utilizada universalmente como condimento, es de grano fino y elevada pureza. Para asegurar que esta sustancia higroscópica permanezca fluyendo libremente al exponerse a la atmósfera se añaden pequeñas cantidades de aluminosilicato sódico, fosfato tricálcico o silicato magnésico. La sal yodada, esto es la sal a la que se le han añadido cantidades pequeñas de yoduro potásico, es muy utilizada en áreas donde hay carencia de yodo en la dieta, deficiencia que puede originar inflamación de la glándula tiroidea, comúnmente llamada bocio. El ganado también requiere sal. A menudo se le suministra en grandes bloques: "piedras de lamer" o adicionado al forraje.

Para el médico y el fisiólogo representa un compuesto crucial relacionado con un problema de particular interés en patología humana: la hipertensión arterial.

Hace 4.500 años, el médico chino Huang Ti Nei Ching Su Wen, escribía: "Si se añade mucha sal a los alimentos, el pulso se hace más fuerte... y cuando las pulsaciones del corazón se hacen vigorosas y sus latidos se prolongan claramente aparece una enfermedad que abarquilla la lengua y priva al enfermo de la palabra".

Han sido precisos casi cinco milenios para comprender que este mal singular era la hipertensión arterial que afecta casi a un cuarto de la población de los países industrializados.

Las industrias de carne enlatada, de elaboración de salchichas, conservas de pescado y procesado de alimentos utilizan sal como conservador o sazonzador o ambos. Se emplea para curar y conservar pieles y como salmuera para refrigeración.

En la industria química, se requiere la sal para la elaboración de bicarbonato sódico, hidróxido sódico (sosa cáustica), ácido clorhídrico, cloro y muchos otros compuestos químicos. La sal se emplea también en la elaboración de jabón, vidrio y porcelana e interviene en procesos metalúrgicos como fundente.

Cuando se añade a la nieve o al hielo, la sal –ya lo indicamos– disminuye el punto de fusión de la mezcla. Por ello en los países nórdicos se utilizan grandes cantidades de sal para ayudar a liberar las vías públicas del hielo y nieve acumulados. La sal se utiliza también en los equipos de tratamientos de la dureza de las aguas que eliminan calcio y magnesio de las mismas.

Hace algún tiempo casi toda la sal utilizada en el comercio se producía de la evaporación del agua de mar y la sal marina es aún una forma de obtención ordinaria en aquellos países marítimos donde el clima es seco y el verano prolongado.

La mayoría de las soluciones salinas artificiales se obtienen bombeando agua a los lechos salinos subterráneos. En algunas zonas industriales, una cantidad considerable de la misma solución salina (salmuera) es utilizada directamente como tal.

Por ser elemento esencial en la nutrición del hombre y también el método más primitivos de conservación de alimentos, amén de sus muchas otras propiedades y aplicaciones que he enunciado brevemente, la búsqueda, extracción control y comercio de la sal han sido elementos importantes y decisivos en la historia de la humanidad. Por todas estas razones, la sal ha entrado por derecho propio en el mundo de los símbolos.

Los poderes de la sal sobre la vida del hombre son demasiado importantes y variados como para que pueda ser considerada solo como un nutriente más, ligado únicamente a sus aspectos físicos. Por ello, y desde los primeros pasos del hombre sobre la Tierra, a la sal se le ha asignado siempre un papel cargado de contenidos espirituales.

De la sal han hablado profetas, santos, poetas, economistas e historiadores, apareciendo implicada en toda clase de acontecimientos económicos, históricos, culturales y científicos.

Llamamos salario al dinero que ganamos y su nombre es sinónimo de gracia, agudeza, ingenio y garbo –de “salero”–. La sal es también en ocasiones sinónimo de desolación, de infertilidad, de muerte.

La Biblia, el libro sagrado que tanta influencia ha tenido en la cultura de occidente, contiene numerosas referencias a la sal. A modo de ejemplo valgan estas referencias.

En el Antiguo Testamento y con el significado de pacto de fidelidad; participa en una de las proposiciones claves del judaísmo. “No sabéis vosotros que Yahveh, Dios de Israel dio a David el reino de Israel para siempre a él y sus hijos en pacto de sal” (II. Par 13:5-6).

En el Nuevo Testamento se cita repetidas veces como en la referencia de Mateo 5.13 en las Bienaventuranzas: “Vosotros sois la sal de la Tierra; pero si la sal se desvirtúa ¿Con qué se la salará? Para nada aprovecha ya, sino para tirarla y que la pisen los hombres”.

La Iglesia Católica utiliza la sal como símbolo de la alianza del hombre y su Dios, en los ritos del bautismo y en la consagración de las iglesias.

La sal era entre los orientales, y lo sigue siendo entre los árabes, un símbolo de amistad, lealtad y confianza y por eso el recipiente en que se ofrecía la sal siempre fue llamativo, espléndido.

Para los romanos el salero era un objeto de culto familiar y en la mesa era una deferencia colocarlo delante del invitado. Hasta las familias más pobres tenían el salero

de plata. Esta tradición se mantuvo a lo largo de la Edad Media. Tenía forma de nave, castillo o concha y solía ser de metales preciosos. Es famoso el salero que elaboró Benvenuto Cellini para el emperador Carlos, que se encuentra en el Prado madrileño.

Posteriormente pasó de ser una pieza de culto, muy decorada, a un objeto más familiar, más modesto, perdiendo también su antiguo significado y pasando a ser parte del servicio ordinario de la mesa.

Como prueba del cambio de los símbolos en nuestros días puede servir el testimonio que cita Vilallonga en un artículo periodístico escrito hace ya algún tiempo en el diario ABC. “Yo mismo estaba en Nueva York pocos días después del magnicidio y sobre la mesa de un importante editor que me había invitado a cenar había un salero de plata que figuraba la cabeza de John Fitzgerald Kennedy. La sal salía por los agujeros que las balas le habían hecho en el cráneo”. ¡Un insuperable símbolo de amistad, lealtad y confianza!

Para los alquimistas de la Edad Media, lo mismo que el mercurio, la sal es una sustancia misteriosa, verdaderamente cósmica, dominante en el inventario de los cuerpos orgánicos y naturales. En el siglo XIII se dice que “Aquel que poseyera la sal fusible y el aceite incombustible puede alabar a Dios” y “el que conoce la sal es consciente del secreto de las antiguas sabidurías”.

Todavía en el siglo XVI, la sal conserva su poder mágico y su fuerza misteriosa. He aquí una expresión que lo testimonia: “Es un componente de esta tierra virgen y pura que está encerrada en el centro de todos los elementos agrupados, es decir en su profundidad”.

Después de Paracelso, una filosofía simbólica que se prolonga en la tradición masónica actual divide nuestro universo en tres mundos: Cielo, Tierra, Infierno, triada espiritual a la que puede hacerse corresponder elementos orgánicos: el azufre, el mercurio y la sal. El azufre y el mercurio son los principios masculino y femenino; el azufre es también un catalizador del ardor. La sal representa la ponderación; es seguramente “la quintaesencia” por encima de todas las cosas y en todas las criaturas “en la sal y su disolución reposa el secreto por completo”.

Y naturalmente la sal no podía dejar de participar en algo tan importante como la brujería.

Los sacerdotes egipcios no consumían sal pero preconizaban repartirla sobre las poblaciones destruidas por la guerra y epidemias para alejar a los demonios. En la Europa de ayer, pero también en la de hoy, toda una larga serie de historias dan testimonio de la gran utilidad de la sal para conjurar los sortilegios.

En el País Vasco, por ejemplo, se dice que cuando canta un gallo advierte del paso de un brujo y para alejarlo es preciso arrojar una pizca de sal al fuego.

El derramar sal es considerado símbolo de mala suerte.

En el Sur de Francia, cerca de La Bigorre se pone sal en el bolsillo izquierdo de los esposos antes de la misa de su matrimonio para protegerlos de la mala suerte y traerles felicidad.

En la isla de Man el impacto de las brujas es aún más fuerte. Todos los años a primeros de noviembre se pone sal en un dedal de coser y se coloca boca abajo sobre un

plato para hacer una pequeña pila. Se forman tantas pilas como personas de la casa y a la mañana siguiente se observa si alguna pila de sal se ha derrumbado; la persona que ha “perdido su pila de sal” debe morir dentro de un año.

En Hesse todavía durante la noche de Navidad, la más larga y la más negra del año, los malos espíritus son particularmente activos: se colocan en orden sobre la mesa doce pieles de cebolla rellenas de sal. Las envolturas en las que la sal se haya “fundido” a la mañana siguiente indicarán los meses del año en curso en que la familia está expuesta al infortunio. En tal caso, a continuación se arroja sal fresca que ha sido bendecida para intentar prevenir la enfermedad.

Sabido es que hasta el más maligno de los diablos tiene miedo a la sal.

En el Magreb se refiere que es la sal la que hace desaparecer su cola. Los hombres que han logrado aproximárseles han puesto sal gruesa sobre su apéndice con el deseo de capturarlos. El dolor, se dice siempre, fue tan vivo que el demonio se vio obligado a seccionar de una dentellada su extremidad inflamada para poner fin a los crueles sufrimientos.

En reciprocidad, todos los testigos parecen coincidir que en las comidas sin sal es cuando los brujos y brujas encuentran al diablo. Existen ejemplos de procesos de brujería en los que se utilizó como argumento condenatorio el realizar comidas sin sal.

El comercio de la sal y sus rutas de distribución se conocen desde tiempos inmemoriales y tuvieron una gran influencia en la economía de los pueblos implicados.

La explotación de la sal en España fue introducida por los fenicios y los griegos, quienes la utilizaban para la salazón de pescados y la fabricación de una salsa llamada “garum” que era exportada a Atenas. Era una salsa de sabor muy intenso, de la que se producían diversos tipos, obtenida por macerado de pescado en sal. Posteriormente los romanos la adoptaron para su consumo por lo que mantuvieron estas salazones y en el litoral andaluz existen todavía tenerías y fábricas de salazón cuyo origen se remonta a la época romana. Alcanzaron un enorme desarrollo, con naves industriales situadas en Almuñecar, Trafalgar, Cádiz, San Fernando... La de Baelo Claudia, la aldea de Bolonia, cerca de Tarifa, en plena playa, es una de las mejor conservadas, y existen aún unos magníficos restos romanos. La población vivía de la pesca del atún y se pueden ver las zonas donde se salaba; unos pozos artificiales muy profundos, donde se colocaban capas de atún y capas de sal. Era exportado a todo el imperio envasado en ánforas, lo que dio también origen a una importante industria alfarera.

Los estados establecen impuestos y monopolios diversos que provocan a lo largo de los siglos conflictos, enfrentamientos y otros hechos históricos destacados.

Esta problemática, con casos residuales, finalizó en el siglo XIX con los nuevos métodos de extracción de sal y el desarrollo de transportes baratos. De una tema, tan amplio, complejo e importante, solo haremos alguna referencia.

Decir por ejemplo que la sal tuvo gran importancia en el comercio medieval en España por la necesidad que tenían de ella los pueblos del Norte de Europa, siendo España y Francia los principales proveedores.

En Castilla, a partir del Siglo XI, se pagaba un impuesto por la sal, la alvara. Durante el reinado de Alfonso XI se organizó un monopolio de explotación de la sal y

las salinas pasaron a considerarse de explotación real. Hacia el año 1338 se constituyó el estanco de la sal como monopolio de venta. Alfolies o toldos eran los nombres castellanos de esos lugares de venta de sal. Sin embargo mantener un monopolio de esas características resultaba harto difícil debido a la abundancia y accesibilidad de las salinas.

Para obligar a que los pueblos comprasen sal se establecieron cupos forzosos que debían ser pagados de antemano.

Durante los siglos XVI a XIX la exportación de sal fue importante en nuestro país, pero el descubrimiento de nuevos yacimientos y la mejora de las industrias conserveras hizo descender considerablemente la producción de sal que es tradicionalmente barata.

El 3 de enero de 1631 se promulgó una real cédula, obra del Conde Duque de Olivares, que debió ser hombre terrible recabando impuestos. Entre otros establecía el estanco de la sal y su venta por la Real Hacienda a 40 reales la fanega más costes. Inmediatamente que fueron conocidas estas disposiciones el Señorío de Vizcaya, que como todas las vascongadas no pagaba alcabalas ni otros impuestos, presentó un memorial en el que poniendo de relieve sus servicios, señalaba que la medida atentaba contra sus tradicionales fueros y privilegios. El Consejo de Castilla no aceptó estas razones lo cual dio origen a una situación conflictiva en el País Vasco de enfrentamiento contra la medida centralista. Se llamó “rebelión de la sal”.

En la lucha por la independencia de la India y su política de no violencia Gandhi incitó a sus seguidores a que no comprasen sal a los ingleses y la obtuviesen de agua de mar. Se produjeron con este motivo grandes enfrentamientos.

En Italia en los estancos, en algunos de los rótulos, se ve todavía junto a la palabra estanco las de sal y sellos.

Los microorganismos, como seres vivos que son, no constituyen ninguna excepción en la biosfera y necesitan la sal tanto como nutriente específico como por su importante papel en la regulación de la presión osmótica. Es por consiguiente un parámetro muy a tener en cuenta en el estudio de los microorganismos en su hábitat natural y en la elaboración de medios de cultivo de laboratorio.

Como organismos generalmente unicelulares se encuentran en contacto directo con el medio, no estando separados de él por tejidos especializados en la protección. En consecuencia, son muy sensibles a las variaciones de la presión osmótica del ambiente como por supuesto a cualquiera otro parámetro del medio externo: temperatura, pH, compuestos químicos, radiaciones...

Los microorganismos normalmente se encuentran en medios naturales hiposmóticos, generalmente soluciones acuosas diluidas. Frente a estos medios de menor presión osmótica, las bacterias han desarrollado un mecanismo defensivo bastante eficaz: la pared celular de mureína o similar. Esta envoltura rígida defiende a la bacteria de las bajas presiones osmóticas en los medios muy diluidos creando una presión de turgencia que equilibra la elevación de la presión osmótica interior consecuencia del mayor aporte de agua. Funciona como la cubierta rígida del neumático que impide la explosión de la cámara flexible que es empujada contra ella por la entrada de aire del exterior. Esta

resistencia tiene un límite por encima del cual se produce la ruptura de la membrana y pared celulares y la lisis bacteriana consiguiente.

Por el contrario, no existen mecanismos de defensa eficaces frente a los medios hipertónicos. Frente a ellos, se produce una pérdida de agua que produce la paralización del metabolismo bacteriano y la consiguiente retracción de la membrana en un fenómeno denominado plasmolisis que lleva a la detención del crecimiento.

La indefensión de las bacterias a los medios hipertónicos es la base de las técnicas de conservación de alimentos y productos sensibles al ataque bacteriano por los métodos tradicionales de salazón, utilización de salmueras o azúcar y soluciones azucaradas.

Estas técnicas de conservación han decrecido en su importancia al desarrollarse otras más eficaces y más sencillas, sobre todo las basadas en la conservación a bajas temperaturas a las que la mayoría de las bacterias no pueden crecer. Con todo, un grupo importante de alimentos continúan siendo conservados en sal o salmueras como es el caso del bacalao, aceitunas, pepinillos, y demás encurtidos, así como diversos embutidos que llevan sal como conservadores: salchichones, carnes tratadas con sal o curadas en ella como es el caso del jamón. En lo referente al curtido de pieles, las prácticas más modernas también han eliminado el tratamiento con sal.

Si bien esta es la tónica general –muerte por plasmolisis celular– existe un grupo de bacterias capaces de resistir a elevadas concentraciones de cloruro sódico, incluso sobre la propia sal y a veces a exigirles para el crecimiento. Son las bacterias halófilas.

Fueron consideradas hasta hace relativamente poco tiempo como mera curiosidad científica. Se sabía que producían sobre las pieles o alimentos conservados en sal manchas rojizas o rosadas que alteraban el valor de la piel o la palatabilidad del alimento, recibiendo distintas denominaciones, la más popular de ellas la conocida como “mal rojo del bacalao”.

Sin embargo, este campo se ha desarrollado extraordinariamente en los últimos años. Han sido varias las razones que han influido en el gran desarrollo actual de las bacterias halófilas. Les han acompañado en este desarrollo otras bacterias capaces igualmente de sobrevivir en medios que como el hipersalino se han denominado “extremos”. Tal es el caso de las llamadas bacterias termófilas, barófilas, acidófilas.. Son conocidas conjuntamente como “baterias extremófilas”.

Podemos simplificar los acontecimientos que han influido en el desarrollo de los microorganismos extremófilos en tres apartados si bien, al igual que en cualquier otro terreno científico, son tanto el propio desarrollo de la ciencia en general como del resto de los acontecimientos de la historia del hombre los últimos responsables de cualquiera de los avances de la ciencia, la tecnología o cualquiera otra parcela del saber.

Los tres acontecimientos a los que me referiré brevemente son de un lado el desarrollo de los viajes espaciales, principalmente por parte de la Agencia Espacial Norteamericana. De otro lado, dos consecuencias del desarrollo de la biología molecular. Una el “boom” de la biotecnología como resultado del desarrollo de la ingeniería genética. La otra de gran importancia teórica: el descubrimiento de que algunas bacterias extremófilas tienen una estructura molecular muy diferente del resto de los

procariotas. Estos organismos fueron denominados, y como veremos, poco felizmente, arqueobacterias.

“Recuperada la estación 202. 10 de diciembre de 1973. 22,30 h. Temperatura del suelo -10°C , temperatura del aire -16°C ”. Estas fueron las últimas palabras escritas en el cuaderno de notas de Wolf V. Vishniac, microbiólogo de la Universidad de Rochestes antes de ser encontrado muerto en uno de los valles secos de la Antártida, en el intento de recuperar una de sus estaciones microbiológicas.

Trataba con sus experimentos en estos inhóspitos parajes de investigar la presencia de microorganismos y, caso de hallarlos, la naturaleza, variedad y origen de los mismos. Actualmente un cráter en Marte, el cráter Vishniac lleva su nombre en homenaje a sus investigaciones.

El 20 de julio de 1976, los Vikingos 1 y 2, que habían partido de la Tierra año y medio antes, aterrizan en los puntos de latitud 2°N , Crisé; que significa tierra de oro y Utopía a 44°N del suelo del planeta Marte. Desde este momento comenzaron a enviar imágenes e información desde Marte a la Tierra.

Entre los muchos experimentos diseñados para los vikingos se encontraban los destinados a obtener información sobre química inorgánica del suelo, la posible presencia de materia orgánica en el polvo y arena de Marte y en la posibilidad de existencia de vida microbiana. Estas últimas consistían fundamentalmente en detectar la producción de gases a partir de materia orgánica transportada y la inversa, observar si los gases radioactivos transportados daban lugar a la producción de materia orgánica.

Vishniac había participado en la preparación de la misión vikingo y algunos de sus diseños más esperanzadores habían sido rechazados por la NASA en 1971 en uno de los recortes de presupuesto.

Los experimentos llevados a cabo y registrados resultaron, como es sabido, interesantes pero poco decisivos. No se encontró ninguna molécula orgánica propia de la materia viva terrestre, pero dos experimentos: la obtención de gases de la materia orgánica y conversión de los gases radioactivos en moléculas orgánicas fueron positivos, aunque cuantitativamente muy limitados.

¿Se dedujo de aquí, la existencia de vida en Marte? Posteriores experimentos han demostrado que estos procesos pueden ser realizados por medios no biológicos, entre otros por arcillas del tipo de las montmorillonitas.

A la pregunta de porqué buscar en Marte la posibilidad de vida, hemos de pensar en cuales son las condiciones ambientales de ese planeta. Marte está más lejos del Sol que la Tierra y sus temperaturas son considerablemente más bajas; su aire está enrarecido y contiene principalmente dióxido de carbono aunque existe también algo de nitrógeno molecular, agua y muy pequeñas cantidades de vapor de agua, oxígeno y ozono. Es imposible que haya hoy en día masas al aire libre de agua líquida porque la presión atmosférica de Marte es demasiado baja para impedir que el agua, incluso fría, entre rápidamente en ebullición. Puede haber diminutas cantidades de agua líquida en poros y capilaridades del suelo. La cantidad de oxígeno es desde luego demasiado pequeña para que un ser vivo pueda respirar. El contenido de ozono es tan bajo que la radiación UV biocida del Sol choca sin impedimento contra la superficie marciana, lo que explica la ausencia de materia orgánica.

¿Como es posible que en un medio ambiente como este pueda siquiera pensarse que existe algo tan difícil, tan aparentemente frágil como la vida? ¿si una célula es poco más que una gota de agua!

Pero si pensamos más detenidamente vemos que la vida sobre la Tierra no se desarrolla solo en medios ambientes “normales”, confortables, con presión de 1 atmósfera, medios bien aireados, pHs aproximadamente neutros, temperaturas cercanas a 35°C. en la Tierra existe otra naturaleza más hostil con temperaturas cercanas a la congelación en el fondo del océano y más frias, y se sabe que existe vida en fuentes termales, algunas además muy ácidas.. y en lagos salados y salinas con elevadísimas presiones osmóticas... y existe vida en corrientes de agua enormemente ácidas y con metales pesados a concentraciones muy elevadas...

Vemos que la plasticidad de la vida es enorme y se acomoda a un elevado número de hábitats diferentes demostrando el enorme poder de adaptación, de evolución, de ste por otra parte sensible y delicado protoplasma –poco más de una gota de agua–.

Y esto es particularmente cierto en el caso de los microorganismos, fundamentalmente las bacterias. Para cualquiera de estos parámetros ambientales, se encuentra que los organismos sencillos pueden crecer en condiciones más extremas del factor que los organismos con estructuras más complicadas y de ahí la preeminencia de los microorganismos en medios ambientes extremos. Así, en las partes más calientes de las fuentes termales, en las más saladas de los lagos salados solo sobreviven microorganismos. Además, al ser unicelulares, no tienen tejidos que los protejan del medio, lo que nos permite en algunos casos comprender mejor el mecanismo de adaptación, la estrategia de supervivencia.

Por todo ello, de existir vida extraterrestre y basada en un modelo similar al de la biosfera –cabe otras hipótesis– estaría formada por microorganismos y tendrían una estrategia de supervivencia semejante a la de los microorganismos de medios ambientes extremos. Esta era la razón de los estudios de Vishniac y su relación con el suelo de Marte. En los valles fríos de la Antártida donde las bajísimas temperaturas y la casi nula disponibilidad de agua líquida habían hecho pensar en ausencia de vida, estos experimentos demostraron su existencia y con una abundancia y variedad impensables.

Y junto a experimentos en la Antártida surgieron experimentos en otros ambientes extremos con resultados similares.

Los marcos más llamativos de los extremófilos son las áreas volcánicas tanto terrestres como marinas, los gases calientes y humos sulfurosos que escapan de la tierra producen solfataras que pueden encontrarse en lugares como Islandia, Italia y el Yellowstone Park. “Un terreno de solfataras, narra uno de los investigadores de estos lugares, parece y huele y se siente como algo extraído del infierno de Dante. Fango caliente surge burbujeante del suelo, el aire apesta a azufre y las escasas charcas de agua están contaminadas de azufre y ácido. Parece imposible que nada pueda sobrevivir aquí”. Sobre el suelo marino las chimeneas hidrotermales vomitan gases sulfurosos junto con agua a temperaturas que pueden alcanzar cientos de grados Celsius.

Fue en una de esas chimeneas del fondo del mar en las costas de Italia donde un grupo, encabezado por Karl Stetter de la Universidad de Regensburg, descubrió un

grupo de arqueobacterias que pueden crecer a temperaturas por encima de los 100°C. Esta es la temperatura más elevada confirmada a la que se ha encontrado que sobrevive un organismo. Pero los representantes del nuevo género llamado *Methanopyrus* no solamente sobreviven a estas temperaturas sino que las exigen. Crecen mejor alrededor de 98°C dice Stetter y se detiene el crecimiento totalmente si la temperatura desciende por debajo de 84°C.

Cualquiera que sea su fuente de energía cada una de estas bacterias debe tener algún modo de evitar que las altas temperaturas destruyan sus proteínas y ácidos nucleicos constituyentes. Las proteínas y los ácidos nucleicos están formadas por los mismos componentes que en el resto de las bacterias; por consiguiente es su estructura secundaria, terciaria, etc. lo que varía. Se ha comprobado que el grado de resistencia al calor del ADN in vitro aumenta en treinta grados cuando se añaden histonas del tipo de las halladas en estos microorganismos.

Algunos extremófilos viven en soluciones ácidas con un pH de 1 o menor, más ácido que los jugos gástricos. Generalmente se encuentran cerca de los volcanes u otras áreas donde el azufre es abundante. Estos acidófilos oxidan azufre para formar ácido sulfúrico y este producto de desecho hace su ambiente extremadamente ácido. Bastante extrañamente, al menos algunos de los acidófilos mantienen su interior neutro con un pH aproximadamente de 7. Nadie sabe exactamente como hacen esto, pero sus membranas deben ser fuertes y tener bombas extremadamente buenas.

Las compañías mineras comerciales a menudo utilizan bacterias acidófilas para lixiviar metales valiosos a partir de menas de grado bajo. Por ejemplo el oro presente en algunas piritas.

También algunos extremófilos son barófilos. Crecen a presiones muy elevadas como las encontradas en las partes más profundas del mar, como lo hacen también otras bacterias e incluso formas de vida superiores. En experimentos de laboratorio han soportado 1,300 a 1,400 atmósferas que equivalen a 13-14 kilómetros de profundidad superior a las más profundas simas que es de 11 kilómetros. Además, algunas de estas bacterias dice A. Yayanos de La Jolla, California, requieren tales presiones. Ciertas especies barófilas no crecerán a presiones inferiores a 300 atmósferas. Se ha demostrado que estas bacterias fabrican los lípidos de membrana menos saturados cuando crece la presión lo que podría ayudar a mantener la fluidez de la membrana normal para enfrentarse a las altas presiones. Las bacterias barófilas reciclan la materia orgánica del océano.

Las estrategias de supervivencia de los seres vivos ante los factores extremos son de tres tipos.

El primero consiste en desarrollar un mecanismo que excluya el factor de su estructura. Es el más frecuente en los organismos pluricelulares que mediante tejidos u órganos especializados se protegen del medio exterior. Así, los panículos adiposos, las cubiertas ceras, y el mismo hombre que mediante el uso de herramientas, que es su mayor logro evolutivo, construye sistemas de protección tan eficaces que le permiten penetrar en todos los medios extremos incluidos el espacio exterior.

Puede por otra parte desarrollarse un mecanismo para detoxificar el factor, como es la presencia de pigmentos carotenoides en los microorganismos fotosintéticos que

apagan los radicales libres de oxígeno producidos como consecuencia de la intensa iluminación, o los solutos compatibles de muchos organismos entre ellos las bacterias halotolerantes, para controlar la presión osmótica externa.

En tercer lugar, el organismo puede aprender a vivir con el factor. En algunos de los ejemplos de esta modalidad, la adaptación es tal que el organismo se hace dependiente del factor que es letal para otros organismos, como es el caso de los halófilos y termófilos extremos.

A menudo la adaptación de un microorganismo a uno o generalmente a más de un factor extremo es compleja e incluye diversos mecanismos. Aparte del concepto taxonómico que ha sido ideado por nosotros los hombres –se definen los medios extremos como medios de escasa biodiversidad– no tenemos ningún motivo para considerar ningún medio como “no extremo”. La vida es supervivencia en las diversas zonas de la biosfera y todos los medios constituyen de algún modo una agresión a la que hay que responder. El gasto que supone la homeostasis es el más considerable de los seres vivos.

Digamos también que frente a estas adaptaciones estrechas de los ecosistemas constantes como las fuentes termales de Yellowstone Park de temperaturas elevadas o el Gran Lago Salado de alta salinidad, se encuentran también los ecosistemas fluctuantes ampliamente distribuidos como salinas y lagos someros, pantanos. En estos medios la adaptación exigen gran plasticidad y los mecanismos o estrategias están peor estudiados.

Es innegable que el interés por la vida extraterrestre en las décadas de los 60 y 70 ha sido una de las principales razones del despertado por el estudio de microorganismos de medios ambientes extremos entendido como el estudio de “los límites de la vida”.

A estos estudios de los microorganismos extremófilos se superpone en los años posteriores, décadas 70 y 80, el descubrimiento de que muchos de estos extremófilos constituyen un nuevo tipo de microorganismos: las llamada Archaeobacterias, tan diferentes desde el punto de vista de sus estructuras moleculares de las restantes Eubacterias como de los Eucariotas y que han constituido una verdadera revolución en el campo de la filogenia de los seres vivos.

El concepto de arqueobacteria nace de los estudios de comparación de secuencias de RNAs realizados por Woese y colaboradores en diferentes grupos de microorganismos extremófilos (metanobacterias, termófilas extremas y halófilas extremas principalmente) y su comparación con las secuencias disponibles de gran número de microorganismos.

En las arqueobacterias además de secuencias características de sus ARN ribosómicos se presentan características fenotípicas que las distinguen claramente de las restantes bacterias. Las principales se refieren a la naturaleza de sus lípidos de membrana, paredes celulares, ARN polimerasas y algunas características de la síntesis de proteínas.

Para estos autores representan pruebas de una discontinuidad evolutiva tan llamativa como la anteriormente establecida entre procariotas y eucariotas, hasta el punto de que

proponen una nueva clasificación de seres vivos con la creación de tres divisiones por encima de los reinos que se mantienen por consiguiente como taxón.

Los tres dominios propuestos se denominan Archaea (arqueas), Bacteria (bacterias) y Eucaria, comprendiendo esta última todos los reinos de eucariotas: Fungi, Animalia, Vegetalia...

De estos tres dominios, dos son procariotas: bacterias y arqueas y el tercero eucariota. Las diferencias entre los dos dominios procarióticos son como hemos dicho moleculares. Entre estos y los eucariotas de organización celular.

Profundizando en las comparaciones de secuencias —el rRNA 16s se considera un excelente cronómetro evolutivo— se elaboró un árbol filogenético con un ancestro común, del que parten dos ramas, una que dio origen a las bacterias y la segunda rama a los otros dos dominios: arqueas y eucarias. Aparte de lo profunda de la división, no se pueden colegir de ella que las arqueas sean más antiguas que las bacterias, en contra de lo que se pensaba en un principio y sin embargo sí demuestran un ancestro común entre eucariotas y arqueobacterias lo que explicaría algunas de las propiedades moleculares compartidas por ambas (el tRNA iniciador es metionina en las dos y formilmetionina en bacterias, o la inhibición de la síntesis por la toxina diftérica y algunas semejanzas funcionales en la maquinaria traductora).

En todo caso, de ser acertada esta teoría, el nombre inicial de arqueobacterias se ha demostrado poco feliz, pues debe desecharse tanto el que sean más antiguas, como que se trate de verdaderas bacterias. En la nueva propuesta desaparece el nombre bacteria pero no el de antiguas: arqueas. En todo caso tampoco será fácil eliminar el término arqueobacterias del lenguaje científico aunque la teoría quedase totalmente comprobada pues ha arraigado con fuerza entre el mundo científico.

Esta construcción ha tenido bastante éxito entre los microbiólogos moleculares, biólogos celulares y genéticos microbianos y ya se recoge en la mayoría de los manuales modernos.

Los estudios realizados en este tema han representado un impulso más y no pequeño para el conocimiento y desarrollo de la microbiología de extremófilos.

Para una más profunda comprensión de estas razones remito al trabajo de Woese y col. "Hacia un sistema natural de organismos: propuesta de los dominios Archaea, Bacteria y Eucaria". Proc. Natl. Acad. Sci. USA. Vol 87, pp. 4576-4579, Junio 1990.

La tercera razón del auge de su estudio está relacionada con el desarrollo de la ingeniería genética y su aplicación en la Biotecnología. Los microorganismos de medios ambientes extremos constituyen un excelente material para los desarrollos biotecnológicos.

La biología molecular ha suministrado a la ingeniería genética los instrumentos necesarios: enzimas que cortan, pegan, replican y traducen ácidos nucleicos, vectores que permiten recombinaciones impensables, salvando barreras de especies y reinos, de procariotas y eucariotas, fronteras que pocos años atrás se consideraban infranqueables. Estos instrumentos los ha utilizado la ingeniería genética para crear células quiméricas capaces de multiplicar esas nuevas combinaciones y por consiguiente sus productos en proporciones prácticamente inagotables, abriendo un horizonte casi ilimitado a la apli-

cación biotecnológica. Lo que hasta el momento no ha conseguido la biología molecular es crear nuevos genes, nuevas potencialidades y la ingeniería genética ha de buscar entre los que la evolución ha puesto en sus manos. Esta limitación obliga a dirigir la mirada a la variabilidad existente, razón ésta del éxito actual de la biodiversidad y han sido los microorganismos, el material clásico de los biotecnólogos, la principal de las fuentes de novedades genéticas.

Ya se sabía de las virtudes de las bacterias en su aplicación a la tecnología: pequeño tamaño y por consiguiente elevada velocidad de metabolismo y en consecuencia de multiplicación, versatilidad metabólica y sencillez genética. Baste recordar que frente a la monotonía del metabolismo energético de eucariotas: respiración, fermentaciones alcohólica y láctica y fotosíntesis oxigénica, se encuentran los innumerables procedimientos diferentes de obtención de energía por anaerobiosis en bacterias, incluidas las distintas "respiraciones anaerobias" y también los modelos de fotosíntesis anaerobias de las bacterias verdes y purpúreas. A estas virtudes clásicas se añaden ahora la elevada cantidad de novedades genéticas halladas en los microorganismos de medios ambientes extremos, las arqueobacterias, que representan todo un catálogo de nuevas potencialidades para utilizar en biotecnología. Así, enzimas que funcionan a temperaturas elevadísimas, a pHs extremos, a concentraciones salinas cercanas a la saturación. Algunas de ellas utilizadas ya como el caso de la actualmente rutinaria técnica del PCR que emplea una polimerasa de termófilos capaz de funcionar a la temperatura que exige la técnica.

Desarrollo de los estudios espaciales, descubrimiento de arqueobacterias y aplicaciones biotecnológicas son los tres grandes impulsos que han disparado el estudio de estos microorganismos incluidos, claro está el de las bacterias halófilas que ha ocupado nuestro trabajo desde hace ya casi 25 años, cuando muchos de estos acontecimientos no nos eran conocidos.

No todas las bacterias halófilas son arqueas. Los bacteriólogos consideran bacterias halófilas a aquellas que crecen mejor a concentraciones de cloruro sódico superiores a 0.2 M (1% p/v).

Se denominan halófilas débiles cuando su óptimo de crecimiento se encuentra por encima de esta concentración y por debajo de 0.5 M de ClNa (3% p/v). Las numerosas bacterias marinas son halófilos débiles.

Se consideran moderadas las bacterias halófilas que crecen mejor a concentraciones entre 0.5 y 2.5 M de cloruro sódico (3 – 15% p/v). Constituyen este grupo las diferentes eubacterias halófilas.

Finalmente se consideran microorganismos halófilos extremos los que crecen mejor a concentraciones de cloruro sódico por encima de 2.5 M, llegando hasta 5.2 M (32% p/v), concentración cercana a la saturación. En estos medios hipersalinos se encuentran las arqueas halófilas extremas, a las que nos hemos referido anteriormente.

Se denominan halotolerantes aquellos microorganismos que pueden soportar concentraciones de cloruro sódico en el medio por encima del 1%, algunas bastante elevadas, pero que no obstante crecen mejor a concentraciones inferiores al 1%.

Los halófilos moderados tienen una estrategia de supervivencia diferente de las arqueas halófilas extremas. Equilibran la concentración del medio salino externo sintetizando los denominados solutos compatibles: moléculas orgánicas pequeñas metabólicamente inertes, que equilibran la presión osmótica. Este mecanismo no es único de bacterias y otros organismos halofílicos poseen la misma estrategia. Muchos de estos compuestos, también llamados osmolitos, son aminoácidos y derivados: glicina, alanina o betaina, o polioles como el glicerol, sacarosa o arabinol. Otro muy frecuente es el beta-caroteno. Muchos tienen una clara aplicación biotecnológica. Representan una adaptación a ecosistemas fluctuantes, genéticamente costosa pero metabólicamente muy económica.

Otra virtud biotecnológica de los moderados es que son verdaderas bacterias y su genética similar al resto de las empleadas en la ingeniería genética haciendo más sencilla su manipulación.

Las arqueas halófilas extremas representan la mejor adaptación a los ecosistemas hipersalinos constantes. Son arqueobacterias y por consiguiente difieren sensiblemente de las eubacterias en multitud de aspectos y en los mecanismos de adaptación a la sal.

Todas ellas son quimiorganotrofas, y la mayoría de las especies, aerobias obligados. Casi todas las halobacterias usan aminoácidos o ácidos orgánicos como fuentes de energía y requieren algunos factores de crecimiento (principalmente vitaminas) para un crecimiento óptimo. Ciertas especies de *Halobacterium* oxidan carbohidratos, aunque es una habilidad poco frecuente. Algunas cepas de *Halobacterium* crecen anaeróbicamente. Otras pocas especies poseen respiración anaeróbica ligada a reducción de nitrato o fumarato.

Todas las arqueas halofílicas extremas requieren grandes cantidades de sodio para el crecimiento. En el caso de *Halobacterium* en el que se han realizado estudios detallados, el requerimiento de Na^+ no se satisface por la sustitución con otro ión, ni siquiera cuando se trata del ión químicamente relacionado K^+ . Como vimos, algunos microorganismos resisten las fuerzas osmóticas, que acompañan la vida en una concentración elevada de solutos, acumulando intracelularmente compuestos orgánicos denominados solutos compatibles. Tales compuestos contrarrestan la tendencia de la célula a deshidratarse bajo condiciones de elevada presión osmótica y lo hacen colocándola en un equilibrio de agua positivo con su entorno. Irónicamente, aunque *Halobacterium* solo prospera en un medio osmóticamente estresante, no produce ningún soluto orgánico compatible. En lugar de ello, las células bombean grandes cantidades de K^+ desde el medio a la célula, de manera que la concentración de K^+ dentro de la célula es considerablemente mayor que la de Na^+ fuera de ésta. Así es como *Halobacterium* emplea un ión inorgánico a modo de soluto compatible, y de esta forma se mantiene en equilibrio positivo de agua.

La pared celular de *Halobacterium* se estabiliza mediante iones sodio: los ambientes bajos en sodio ocasionan la rotura de la pared celular. El Na^+ se une a la superficie externa de la pared y es imprescindible para el mantenimiento de la integridad celular; si el Na^+ presente es insuficiente, la pared se rompe y la célula se lisa. La pared celular

de *Halobacterium* carece de peptidoglicano (como en todas las demás arqueas) y en su lugar se compone de glicoproteína. Esta proteína posee un contenido excepcionalmente elevado de los aminoácidos “ácidos”, aspartato y glutamato. Las cargas negativas que aportan los grupos carboxilos de estos aminoácidos a la pared celular de glicoproteína están protegidas por el Na^+ . Cuando este es diluido, las partes de la proteína con carga negativa se repelen activamente, dando lugar a la lisis celular.

Las proteínas citoplasmáticas son también muy ácidas, pero diversos estudios de enzimas halobacterianas muestran que para su actividad se requiere K^+ pero no Na^+ . Esto no es sorprendente, cuando se tiene en cuenta que el K^+ es el catión interno predominante en las células de *Halobacterium*. Además de una composición de aminoácidos muy ácida, las proteínas citoplasmáticas de halobacterias contienen niveles muy bajos de aminoácidos hidrofóbicos. Probablemente, este fenómeno representa una adaptación evolutiva a un citoplasma de elevada composición iónica. En un ambiente tan polarizado, las proteínas tienden a permanecer en disolución, mientras que las moléculas no polares se agrupan, tal vez perdiendo su actividad. Sus ribosomas necesitan también elevados niveles de K^+ para su estabilidad (los ribosomas de organismos no halófilos no necesitan K^+). Se aprecia entonces que las arqueas halofílicas extremas poseen una gran adaptación, interna y externa, a la vida en medios de elevada composición iónica. Los componentes celulares expuestos al medio externo necesitan mucho Na^+ para su estabilidad, mientras que los internos requieren K^+ también en gran cantidad. En ningún otro grupo de procariotas se encuentra este requerimiento especial por cationes específicos en cantidades tan grandes.

Algunas especies de halófilos extremos presentan la interesante propiedad de realizar una síntesis de ATP mediada por la luz, sin intervención de pigmentos clorofílicos. Uno de los aspectos claves de la fotosíntesis es la fotofosforilación, y en consecuencia la síntesis de ATP por la generación, dependiente de la luz, de una fuerza protonmotriz. Ya hemos visto la elevada pigmentación de las arqueas halófilas extremas. La pigmentación se debe a los carotenoides de color rojo y anaranjado, principalmente C50, llamados bacterioruberinas y también a los pigmentos inducibles que participan en el metabolismo energético. Aunque *Halobacterium salinarum* y otros halófilos extremos carecen de clorofilas y bacterioclorofilas, en condiciones de baja aireación sintetizan e insertan en sus membranas una proteína llamada bacteriorrodopsina. El nombre se debe a la semejanza estructural y funcional con el pigmento de la retina rodopsina. Conjugada con la bacteriorrodopsina, se encuentra una molécula de retinal, parecida a un carotenoide que absorbe la luz y cataliza la transferencia de protones a través de la membrana plasmática. A causa de su contenido en retinal, la bacteriorrodopsina es de color púrpura (morado) y las células de *Halobacterium* que han pasado de crecer en condiciones de elevada aireación a una limitación de oxígeno, cambian gradualmente de color anaranjado o rojo, a otro tono más morado, debido a la inserción de bacteriorrodopsina en la membrana citoplasmática. Las membranas púrpuras aisladas contienen alrededor del 25% de lípidos y 75% de proteína, y el componente púrpura se inserta al azar en la superficie de la membrana plasmática. En apariencia la bacteriorrodopsina se encaja en la membrana plasmática durante el cambio a la situación de bajas concentraciones de O_2 .

La bacteriorrodopsina absorbe con fuerza la luz en la región verde del espectro a 570 nm. El cromóforo retinal de la bacteriorrodopsina, que normalmente existe en todas las configuraciones trans, se excita y se convierte temporalmente en una forma cis tras la absorción de la luz. Fruto de esta transformación es la transferencia de protones a la superficie externa de la membrana. La molécula de retinal se relaja y retorna a su forma isométrica más estable, trans, en la oscuridad después de la incorporación de un protón desde el citoplasma, con lo cual se completa el ciclo. A medida que los protones se acumulan en la superficie externa de la membrana, la fuerza protonmotriz aumenta hasta que la membrana queda suficientemente “cargada” para impulsar la síntesis de ATP a través de la acción de la ATPasa ligada a membrana.

En *Halobacterium salinarium*, la producción de ATP mediada por la luz favorece el crecimiento lento de este organismo anaeróbicamente en condiciones nutricionales en las que no se producen reacciones generadoras de energía, y la luz mantiene la viabilidad de los cultivos anóxicos incubados en ausencia de fuentes de energía orgánica. La bomba de protones estimulada por la luz en *H. Salinarium* bombea también Na^+ fuera de la célula, por la acción de un sistema antiportador de Na^+/H^+ , y provoca la incorporación de una variedad de nutrientes, incluyendo el K^+ necesario para el equilibrio osmótico. Indirectamente, la incorporación de aminoácidos por i está dirigida por la luz, ya que el transporte de aminoácidos tiene lugar con la incorporación de Na^+ por un sinportador de aminoácidos- Na^+ . La incorporación continuada depende de la retirada de Na^+ via el antiportador Na^+/H^+ (impulsado por la luz).

Una bomba diferente, impulsada por la luz, la halorrodopsina, está presente en las halobacterias para bombear Cl^- a la célula como un anión para el catión K^+ . Al igual que la bacteriorrodopsina, la halorrodopsina contiene retinal, y el Cl^- se une a este (en lugar de H^+ , como en el caso de la bacteriorrodopsina) y es transportado a través de la membrana desde el exterior al interior.

Me voy a referir finalmente con la mayor brevedad posible al comienzo de nuestras investigaciones y a los grupos que fueron surgiendo posteriormente y que dedican actualmente gran parte de su esfuerzo a estos temas.

Nuestros trabajos iniciales comenzaron muy modestamente en Alicante, en la actual Universidad, entonces Colegio Universitario, donde el que os habla iniciaba sus primeros pasos en la microbiología. Las limitaciones de recursos del igualmente modesto laboratorio diseñado para prácticas de Biología General, junto al deseo de iniciar una investigación con una temática cercana a nuestro entorno inmediato, me hicieron poner los ojos en las salinas de Santa Pola.

Siempre me habían interesado estos extraños microorganismos que se desenvolvían en medios tan difíciles, y allí a un tiro de piedra se encontraba un laboratorio natural con un experimento ya diseñado a nuestro alcance: las salinas de Santa Pola. Estas salinas son del tipo denominado “salinas de estanque múltiple”.

Las salinas “de estanque múltiple” constituyen un medio seminatural casi ideal, en el que el parámetro concentración de sal varía en el espacio (cada estanque tiene una concentración creciente de sal: desde agua de mar a sal sólida) y los restantes parámetros en el tiempo: en cada instante todos los estanques tienen igual intensidad de luz,

temperatura, presión, humedad ambiental, etc., pero éstos cambian –todos a la vez– a lo largo del tiempo (horas del día, meses, estaciones...) según la climatología.

En este medio ideal para los estudios ecológicos iniciamos nuestra andadura por el halofilismo. Y pudimos comprobar primeramente –en contra de lo establecido– la gran diversidad existente entre estos microorganismos, los halófilos extremos, incluso a las más elevadas concentraciones de sal.

Estudiamos esta variabilidad microbiana e iniciamos los trabajos taxonómicos encaminados a identificar y clasificar los organismos aislados. Nos ocupamos también de analizar la utilización que hacían de diversas fuentes de carbono, comprobando que eran muy polivalentes, en contra de la opinión entonces mantenida por los pocos investigadores dedicados al tema en ese momento.

Y también algunos otros aspectos como el posible origen de los halófilos extremos que inicialmente excluían el agua de mar por consideraciones osmóticas.

Fue grande la desconfianza de muchos editores de las revistas científicas de la especialidad hacia estos hallazgos. Pensaron algunos, que no sabíamos los que teníamos entre las manos.

Estos trabajos iniciales los realicé con el Dr. Rodríguez Valera que actualmente es catedrático de la Universidad de Alicante y dirige un excelente y prestigioso equipo de investigación. Es además de un amigo, un maestro, con el que seguimos colaborando. Tiene unas cualidades innatas para la investigación y es brillante e imaginativo en sus planteamientos. Sus principales logros son enunciados brevemente:

Dos de los tres géneros reconocidos en la actualidad para las especies de halobacterias: *Haloarcula* y *Haloferax* han sido propuestos por su laboratorio. Además de la taxonomía y ecología de halobacterias ha realizado notables contribuciones a la Biología Molecular de Archaea con particular énfasis en la regulación de la expresión genética. Han descrito fenómenos de metilación del DNA afectados por la concentración de sal del medio en lo que podría ser uno de los casos más interesantes de fenómenos epigenéticos en Procariotas. También han identificado secuencias relacionadas con el reparto del material genético en la división celular. El uso de halobacterias para la producción de polímeros, trabajo en el que colaboramos estrechamente en su día, es otra de sus líneas de trabajo.

De mi estancia en Granada queda allí, el grupo de la doctora Quesada. Este grupo ha realizado también aportes importantes, como el estudio por primera vez de microorganismos halófilos en suelos salinos, la descripción de nuevos géneros y especies de bacterias halófilas moderadas y el hallazgo de bacterias halófilas productoras de exopolisacáridos con actividades viscosizantes y emulgentes. Muchos de estos trabajos también se hicieron en colaboración con nuestro grupo de Sevilla.

Este grupo de Sevilla, inicialmente dirigido por el que os habla y del que ahora es responsable el profesor Antonio Ventosa, ha realizado numerosísimos trabajos taxonómicos, ecológicos y aplicados. El Dr. Ventosa preside actualmente el Comité Internacional de Halobacterias y ha sido el encargado de redactar el nuevo capítulo del Manual del Bergey que atiende a estos microorganismos. También se han realizado multitud de trabajos en relación a las bacterias halófilas moderadas, ocupándose tanto de su

taxonomía, como de su genética y fisiología. Un grupo, el que dirige Joaquín Nieto se ocupa actualmente de algunos aspectos de los solutos compatibles.

No puedo dejar de citar los nombres de quienes constituyen este grupo al que me honro pertenecer y que han contribuido a que en microbiología de halófilos a nivel internacional se hable castellano. Aprendí mucho de ellos y ha sido una alegría conocerlos. Si hoy estoy aquí se debe en gran parte a su trabajo. A Antonio Ventosa y Joaquín Nieto ya citados se unen, María Teresa García, Carmen Gutiérrez, Rosario Fernández, Dolores Galán, Carmen Márquez, Carmen Vargas y Encarnación Mellado. Muchas gracias a todos. Un recuerdo también agradecido a los doctores que han realizado su tesis en nuestro laboratorio.

Y estos han sido, solo esbozados, algunos de los granos de arena; aquí de sal, que estos hombres y mujeres que me honro en conocer han aportado a la inmensa playa –salina– del conocimiento.

Me gustaría pensar que se recuerde el transcurso de mi vida académica como si fuera un reguero de sal.

Y como homenaje a la sal, recordar los bonitos versos del gran poeta andaluz que nos ha dejado recientemente.

*Ya estarán los esteros
Rezumando azul de mar
Dejadme ser salinero
Granito de salinar.
Qué bien a la madrugada
Correr en las vagonetas
Llenas de nieve salada
Hacia las blancas casetas.
Dejo de ser marinero, madre,
Por ser salinero.
R. ALBERTI. “Marinero en tierra”.*

Muchas gracias.

DISCURSO PRONUNCIADO POR EL EXCMO. SR. D. MANUEL LOSADA VILLASANTE

*Académico Numerario,
en contestación al leído por el
Excmo. Sr. D. FRANCISCO RUIZ BERRAQUERO
en el Acto de su recepción como Académico Numerario
celebrado el día 18 de noviembre de 1999*

Me cabe hoy el honor y la satisfacción de haber sido designado por nuestra Academia para contestar al discurso de ingreso de D. Francisco Ruiz Berraquero como Académico de Número de la Sección de Ciencias de la Tierra. Ciertamente fue una decisión muy acertada de la Real Academia Sevillana de Ciencias haber sabido adaptarse a los nuevos tiempos y a las demandas de nuestra sociedad ampliando las cuatro Secciones clásicas existentes (Matemáticas, Física, Química y Biología) con la creación de otras dos nuevas: Tecnología y Ciencias de la Tierra. A este acierto inicial se suma ahora el de incorporar a esta última a un distinguido profesor y científico que ha dedicado los mejores años de su vida a la enseñanza por muchas universidades españolas y al estudio de uno de los grupos más arcaicos, interesantes y actuales de la Microbiología, las bacterias halofílicas, consiguiendo fundar una escuela –ya consolidada y de renombre internacional– a la que sin duda se puede augurar un espléndido futuro.

Ruiz Berraquero es farmacéutico y biólogo, o viceversa, biólogo y farmacéutico, que tanto monta, monta tanto, como es también frecuentemente el caso entre los médicos-biólogos (Cajal, Ochoa, Kornberg, Grande Covian, Sols, Grisolia y tantos otros). Desde 1992, el profesor Ruiz Berraquero es Académico de Número de la Academia Iberoamericana de Farmacia, con sede en Granada y Sevilla y cobertura transatlántica, de la que en 1998 fue elegido por aclamación su Presidente. Ahora amplía sus horizontes y nos enriquece a todos con su saber y experiencia al entrar a formar parte de la Sección de Ciencias de la Tierra de la Academia Sevillana de Ciencias.

La reciente creación de Academias en las diferentes Autonomías de la nación española es un evento importante y afortunado que nos hace remontarnos a la Revolución Científica del siglo XVII y a los comienzos del siglo XVIII, el siglo de la Razón y de las Luces, cuando, con el advenimiento de los Borbones, se reinicia en España la actividad científica y se emprende la fundación de las Academias nacionales. Ambos hechos merecen ahora –por su significación pasada y presente y por el destacado papel desempeñado por Sevilla en la historia de las Academias– ser comentados con algún detalle.

En contraste con la posición de vanguardia que había ocupado España en el siglo de los Descubrimientos –en el que Sevilla fue capital científica y tecnológica–, nuestra nación quedó rezagada y al margen de la Revolución Científica del siglo XVII. Este eclipse científico fue el resultado de una compleja serie de circunstancias y condicionamientos (sociales, económicos, políticos, ideológicos, culturales), lo que imposibilita cualquier intento de análisis simplista. Durante el siglo del Barroco, el cultivo de la ciencia en España sufrió un auténtico colapso, y su peso relativo disminuyó drásticamente. Según los datos del prestigioso historiador de la Ciencia López Piñero, los libros científicos y técnicos impresos en Sevilla, que habían superado el veinte por ciento durante el Renacimiento –porcentaje notablemente superior al de los primeros centros impresores de Europa–, apenas alcanzaron el seis por ciento en el siglo de Velázquez.

La lenta y tardía introducción de la Revolución Científica en España se efectuó a través de dos vías: la de los científicos más abiertos y conciliadores, que pueden denominarse *eclécticos*, y la de los *novatores*, que rompieron con los saberes tradicionales y sus fundamentos epistemológicos. Precisamente fue Sevilla –que nunca olvidaría su época de esplendor renacentista– uno de los principales centros de las corrientes eclécticas a lo largo de todo el siglo XVII, y acabaría siendo el escenario de la institucionalización del movimiento novator. Tras el esplendor científico y tecnológico del siglo XVI –nuestro refulgente y glorioso siglo de Oro– y la subsiguiente desgana general por la ciencia durante el decadente siglo XVII de los Austrias, la Corona de España volvió a interesarse de nuevo en el siglo XVIII –el siglo de la Ilustración– por el estudio teórico y práctico de las Ciencias exactas, físicas y naturales.

Dos factores contribuyeron decisivamente al nacimiento de la ciencia europea en la época álgida de la historia de la humanidad conocida como de la Revolución Científica, en que los investigadores se lanzan a hacer experimentos y a formular leyes fundamentales para la comprensión de la estructura y funcionamiento del Universo: la invención de instrumentos científicos y la fundación de las Academias de Ciencias. Baste decir que durante el siglo XVII se inventaron, desarrollaron y aplicaron en rápida sucesión ocho importantes aparatos de laboratorio: el microscopio, el telescopio, la balanza, el termómetro, el barómetro, la bomba de vacío, la máquina de electricidad y el reloj de péndulo.

Cuatro de las Academias más famosas, dos en Italia, una en Inglaterra y otra en Francia, nacen casi de improviso –llenando el vacío que habían dejado las Universidades, más preocupadas en cuestiones dogmáticas– para fomentar el cultivo de la investigación y la creación de un ambiente científico y permitir la difusión rápida de los conocimientos adquiridos. El nombre de *Accademia* procede de la que fundara Platón (¿387 a.C.) en unos jardines de las afueras de Atenas, y aparentemente recibió este nombre porque el terreno en que estaba situada había pertenecido a un griego legendario llamado “Academos”.

Después de la *Accademia Secretorum Naturae* (Academia de los Secretos de la Naturaleza), establecida en Nápoles por De la Porta en 1560, y de la *Accademia de Ciencias Matemáticas*, fundada en Madrid por Felipe II en 1582, la primera institución que puede considerarse en sentido moderno como academia científica fue la *Accademia*

dei Lincei (Academia de los Linceos), fundada en Roma en 1603 bajo el patrocinio del duque Federico Cesi. Esta sociedad, que eligió a Galileo en 1611 como su miembro número seis, mantenía frecuentes reuniones en las que sus miembros discutían los resultados de sus investigaciones particulares. A la muerte de su patrón en 1630, se disolvió la Academia, a la que el duque había dispensado su apoyo financiero y la necesaria organización.

La *Accademia del Cimento* (Academia del Experimento), cuyos miembros se venían reuniendo informalmente desde 1651, fue fundada en Florencia en 1657 por el gran duque Fernando II de Médicis y dotada con un laboratorio equipado con los más valiosos instrumentos asequibles. Esta academia se caracterizó por apremiar a sus miembros a que trabajasen en colaboración –más bien que individualmente– en los más importantes temas de su tiempo, asemejándose así a los modernos institutos de investigación. La Academia se deshizo en 1667, no sin antes promover una serie de investigaciones relevantes y de que sus miembros publicaran una memoria conjunta dando cuenta de sus experimentos y descubrimientos.

Entretanto, en Londres, un grupo de científicos se reunía informalmente desde mediados de siglo una vez por semana para discutir sobre Filosofía Natural, constituyendo el núcleo inicial de lo que sería más tarde la *Royal Society* (Real Sociedad), cuyos estatutos fueron aprobados en 1662 por el rey Carlos II. La Royal Society inició en 1665 la publicación de sus *Philosophical Transactions* (Actas filosóficas), la primera revista científica del mundo destinada a publicar comunicaciones originales. Casi al mismo tiempo y de manera similar se constituyó en París, a partir de un grupo de filósofos y matemáticos, la *Académie des Sciences* (Academia de Ciencias), siendo aprobada formalmente en 1666 por cédula real del monarca Luis XIV. La Academia patrocinaba la realización de investigaciones en una variedad de materias agrupadas en dos campos: Matemáticas (que incluía Astronomía y Física) y Filosofía natural (que incluía Química, Medicina, Anatomía, etc.).

Con motivo de la celebración de la Capitalidad Cultural de Madrid en 1992 –un año en el que España y Sevilla fueron centro de interés mundial–, el Instituto de España publicó un hermoso y lujoso libro sobre la historia y actividades de *Las Reales Academias*. En su prólogo, el rey D. Juan Carlos hizo notar que su antepasado Felipe V, el primero de la dinastía borbónica, fue el fundador de las más antiguas academias españolas, acogiendo a los académicos de la Española en su propio palacio, que era entonces el Alcázar de los Austrias, y buscando acomodo a la de la Historia en otras dependencias reales. A los académicos de la Real Academia Sevillana de Ciencias y de la Iberoamericana de Farmacia –surgidas, como tantas otras en nuestra región, gracias al interés y apoyo del Consejero de Educación y Ciencia de la Junta de Andalucía Antonio Pascual– nos puede servir de consuelo el que nuestros ilustres antepasados de la capital de España pasaran ya, hace casi tres siglos, por similares circunstancias a las nuestras de falta de locales donde asentarse.

El *Instituto de España*, que hoy dignamente preside la ilustre bioquímica Margarita Salas, fue creado en 1937, siendo sus inspiradores, o padres espirituales, Pedro Sainz Rodríguez, nombrado poco después ministro de Educación Nacional, y Eugenio D'Ors.

Manuel de Falla fue designado primer presidente, y Eugenio D'Ors, secretario perpetuo. En principio, el Instituto estuvo formado por las Reales Academias Nacionales de la Lengua Española, de la Historia, Bellas Artes de San Fernando, Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Ciencias Morales y Políticas, y Medicina. Posteriormente se le unirían la de Jurisprudencia y Legislación y la de Farmacia, completando así las ocho que lo integran en la actualidad.

La *Real Academia Española* fue fundada en 1713 por iniciativa de D. Juan Manuel Fernández Pacheco, Marqués de Villena, y aprobada por Real Cédula de Felipe V, en 1714, para “velar por la pureza, propiedad y esplendor de la Lengua Castellana”. Usa por emblema un crisol puesto al fuego con la leyenda “Limpia, fija y da esplendor”. La *Real Academia de la Historia* fue creada por decreto en 1738 y Real Cédula de Felipe V del mismo año, para “ilustrar la Historia de España en los diversos ramos de la vida, civilización y cultura de los pueblos españoles”. La *Real Academia de Bellas Artes de San Fernando* fue fundada en 1744 por iniciativa del escultor D. Juan Domingo Olivieri y el Marqués de Villarias por Real Cédula de Felipe V para “promover el estudio y cultivo de la Pintura, Escultura, Arquitectura y Música”.

La *Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales* fue creada por iniciativa del marqués de Molins, D. Mariano Roca, ministro de Comercio, Instrucción y Obras Públicas, por Real Decreto de 1847, como continuación de la Antigua “Academia de Ciencias Naturales de Madrid”, y declarada, al propio tiempo, igual en categoría y prerrogativas a las Reales Academias Española, de la Historia, y de nobles Artes de San Fernando, que ya existían desde la primera mitad del siglo XVIII. Su objetivo es “cultivar el estudio de las Ciencias Exactas, Físicas y Naturales en su esencia y en sus principales aplicaciones”. Posee por emblema la alegoría de una lente y un compás enlazados bajo el ojo de la Providencia y la leyenda de “Observación y cálculo”. Se divide en las secciones de Ciencias Exactas, Ciencias Físico-químicas y Ciencias Naturales.

Los antecedentes y motivos de su fundación constan sucinta y claramente compendiados en la exposición y el articulado de aquel decreto y merecen ser traídos a colación, pues demuestran el interés y la visión de futuro del ilustre sevillano Antonio de Ulloa y del alicantino Jorge Juan en su intento fallido de crear en Madrid una Academia Nacional de Ciencias. D. Mariano Roca expuso en dicha fecha a V.M.: “Señora: Uno de los ramos del saber humano que el Ministerio de mi cargo debe promover con preferencia es el de las Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, que tan poderosamente influyen en la industria y prosperidad de las naciones. En breve, Señora, estarán las Universidades dotadas de los medios necesarios para cultivarlas, pero, aun así, cree el Ministerio que suscribe que es indispensable acudir a otros medios no menos eficaces, que en países extranjeros han contribuido al engrandecimiento de aquellas ciencias y a la importancia de sus aplicaciones de toda especie. Si las Sociedades puramente literarias han hecho grandes servicios, no les ceden las científicas en utilidad e importancia, y aun pueden aventajarlas, porque el estudio de la Naturaleza requiere, más todavía que el de las lenguas y otras ciencias, los esfuerzos merecidos de muchos hombres que se dediquen de consuno a arrancarle sus secretos. Por tanto, se han creado y mul-

tipificado en todos los países cultos Sociedades consagradas al cultivo de las Ciencias Naturales... Varias veces se ha intentado en España seguir tan laudable ejemplo, y aún se adelantó en este punto nuestra nación a todas las restantes, puesto que desde los años de 1580, es decir, mucho antes de que se fundasen las famosas Sociedades de París y Londres, ya en Madrid existía una Academia Real de Ciencias. Fue, sin embargo, su existencia harto efímera, tanto que, al extinguirse la dinastía austriaca, ya no quedaba ni memoria de ella... El Marqués de Villena, que en el reinado del señor Rey D. Felipe V contribuyó tanto a la creación de la Academia Española, había concebido su primer proyecto bajo un plan más vasto, queriendo que abrazase también todas las ciencias... Posteriormente, se renovó aquel primer pensamiento. Por desgracia, tampoco produjeron aquellos esfuerzos el resultado apetecido, y la misma suerte cupo a los que en varias ocasiones se intentaron después, particularmente por los ilustres D. Jorge Juan y D. Antonio de Ulloa. Por fin, en el año 1834 la augusta madre de Vuestra Majestad, siendo Gobernadora del Reino, aspiró a la gloria de fundar en España una institución tan necesaria, creando por Decreto la Academia Matritense de Ciencias Naturales, que todavía existe; mas ni la época era a propósito para que tal Corporación produjese los frutos que de ella se esperaban, ni se le dieron el carácter e importancia que requería la utilidad de su objeto... A V.M. corresponde, Señora, acabar la obra empezada por su augusta madre”.

El día 19 de Abril de 1972 me cupo el honor de tomar posesión de la medalla académica número 3 en la Real Academia de Ciencias que ostentó en su día mi admirado y querido maestro D. José María Albareda, de tan grata memoria, y que desde el 29 de Mayo de 1985 posee el insigne botánico Salvador Rivas Martínez, al haber pasado yo, a petición propia, el 22 de octubre de 1980 a Supernumerario, el primero en esta nueva escala en la historia de la Academia.

La *Real Academia de Ciencias Morales y Políticas* fue fundada por Real Decreto de la Reina D^a Isabel II de 1857, para cultivar dichas ciencias. La *Real Academia Nacional de Medicina* fue reorganizada por Decreto en 1861, también durante el reinado de Isabel II, en recuerdo de la antigua “Real Academia Médica Matritense” (1734) “para fomentar el progreso de la Medicina española”. Finalmente, la *Real Academia de Jurisprudencia y Legislación* obtuvo los estatutos y la denominación que hoy ostenta por Real Orden de 1882. En cuanto a la *Real Academia de Farmacia*, el Real Colegio de Farmacéuticos consiguió que el Gobierno aceptara el cambio de denominación en 1932, pero conviene analizar con algún detalle la gestación de las Academias de Medicina y Farmacia, tan ligadas a nuestra ciudad.

En el último tercio del siglo XVII, la Medicina y la Farmacia españolas, hasta entonces encerradas en sí mismas, cultivadoras de un galenismo a ultranza y acérrimamente opuestas a cuanto significase apertura a la ciencia en el arte de curar que se desarrollaba en el resto de Europa –Anatomía, Fisiología, Microscopía, Iatroquímica–, comienzan a cambiar por obra de los novatores, especialmente en Sevilla. En 1697, uno de los médicos revalidados más prestigiosos de Sevilla, Juan Muñoz de Peralta, médico de Cámara de sus Reales Majestades, creó en su propio domicilio, según puede leerse en la placa puesta en su honor en la casa número 19 de la calle de San Isidoro,

al lado de la hermosa iglesia medieval de su nombre, la *Veneranda Tertulia hispalense médico-quirúrgica-anatómica y matemática*, primera institución médica española consagrada a las nuevas ideas, al margen de la medicina oficial. En 1700, dicha Tertulia se transformó en la *Regia Sociedad de Medicina y demás Ciencias de Sevilla*, cuyas Ordenanzas iniciales aprobó Carlos II y que alcanzaron, en 1701, la protección real de Felipe V. A esta Sociedad, llamada por el médico y ensayista madrileño D Gregorio Marañón “milagro de Sevilla”, pertenecieron como miembros numerarios y de honor los más afamados médicos y farmacéuticos de la época. En 1830, la Regia Sociedad pasaría a denominarse *Real Academia de Medicina de Sevilla*.

La Universidad quedó completamente al margen del movimiento renovador de los saberes anatómicos, químicos y botánicos recientes que pretendía la fundación de la Regia Sociedad. Se trataba en efecto –como había ocurrido con las primeras Academias europeas del siglo XVII– de grupos extrauniversitarios que, de espaldas a la Universidad y con el apoyo de la realeza, pretendían cambiar el rumbo de la ciencia. Aunque a fines del siglo XVII, los doctores del claustro Médico de la ciudad de Sevilla estaban en buena armonía con los médicos revalidados, la concordia fue rota por otros doctores, produciéndose como consecuencia la separación de ambos estamentos. Las Academias nacían, en principio, con afán de lucha: frente a la tradición, la modernidad; frente al estamento universitario, las sociedades renovadoras.

Con actitud conciliadora expuso con convicción el político y escritor asturiano Jovellanos en 1777, tres cuartos de siglo después de la fundación de la Regia Sociedad sevillana: “La Universidad literaria y la Sociedad médica son dos cuerpos de conocida utilidad para el público y ambos necesarios para perfeccionar el estudio de la ciencia médica. Lo es la Universidad, porque en ella se deben enseñar los elementos y principios de ella... Lo es también la Sociedad, porque no siendo posible que la Universidad produzca hombres consumados es de suma importancia un cuerpo cuyo instituto sea perfeccionar con frecuentes experimentos, disertaciones y conferencias al estudio médico”.

Esta postura mediadora y razonable de Jovellanos resultaría infructuosa. Basta reparar en el tono altivo, ridículamente retrógrado y antieuropeo con que la Universidad de Sevilla dio noticia a la de Granada de la fundación de “una Sociedad o tertulia que novissimamente se ha introducido en esta ciudad de Sevilla, intentando persuadir doctrinas modernas cartesianas, paracélsicas y de otros holandeses e ingleses, cuyo fin parece pervertir la célebre de Aristóteles, tan recibida en las escuelas católicas romanas, despreciando las de Hipócrates, Galeno y Avicena, admitidas por leyes del reino en todas las Universidades”.

El ambiente renovador de la vida médica surgido en Sevilla no podía quedar reducido a pequeños núcleos y pronto se extendería a toda España, y por supuesto a Madrid, gracias a la obra benemérita de un farmacéutico, José Ortega –examinador del Protomedicato y socio de la Real Sociedad de Sevilla–, y de un reducido grupo de amigos médicos y cirujanos. En efecto, en 1733 nace la *Tertulia literaria médico-chymico-phisica* en la farmacia de Ortega en la calle de la Montera número 10 de la capital de España, teniendo, según consta en el libro de actas de la futura Academia, como fin único “el adelantamiento y cultivo de las facultades médica, quirúrgica y farmacéuti-

ca". Para evitar conflicto entre las tres profesiones, la presidencia de la Tertulia recaía por turno en un médico, un cirujano y un farmacéutico.

Asentado en el trono Felipe V, se inicia el reformismo, y los tertulianos fundadores determinan aprobar nuevos estatutos y mudar el nombre a la Tertulia. Un Real Decreto de 1734 aprueba los Estatutos y pone a la Tertulia el nombre de *Academia Médica Matritense*, extendiéndose sus fines y tareas al cultivo de la Historia natural y médica, y agregándose a los estudios de Medicina, Cirugía y Farmacia los de Química, Física, Botánica y demás Ciencias naturales. En cuanto a su estructura, se estableció la vinculación de su Presidencia, con carácter perpetuo, a un médico de la Real Casa.

Como presidente perpetuo de la Academia médica matritense fue designado José Cervi, natural de Parma y profesor de la Universidad de Pavía, que había llegado a España en 1714 con Isabel de Farnesio, segunda esposa de Felipe V. Cervi fue nombrado muy pronto (1717) médico de Cámara del rey y presidente del Protomedicato, ejerciendo la presidencia de la Academia matritense desde 1734 a 1748. Fue precisamente Ortega quien a su muerte pronunció el "Elogio histórico del señor doctor D. Joseph Cervi", que fue impreso ese mismo año. Hay que reconocer que la designación de Cervi —si bien impuesta— no fue, sin embargo, arbitraria, dado su indiscutible prestigio. En 1738, la Academia consiguió, por mediación de Cervi, ser incluida bajo la protección real, y su nombre sería, a partir de entonces, *Regia Academia Médica matritense*. Otro acontecimiento importante fue la publicación en 1739 de la primera edición de la *Pharmacopeia matritensis*, en colaboración con el Colegio de Farmacéuticos de Madrid.

Cervi desarrolló una enorme labor en pro de la medicina española y en la promoción de la Regia Sociedad de Sevilla y de la Real Academia Matritense. Fue también miembro de la Academia de Ciencias de París y de la Real Sociedad de Londres. Con motivo del traslado de la Corte a Sevilla en 1729, donde tendría su sede por un lustro, Cervi fue nombrado Presidente de la Regia Sociedad, de la que era socio de Número desde 1720, y, dada su influencia, consiguió del rey pingües beneficios para la Sociedad. En efecto, en 1729, Felipe V firmó una Cédula de privilegios y, en 1736, aprobó unas nuevas Ordenanzas que volvían a poner a la Regia Sociedad bajo protección real, actualizando así las primeras de Carlos II, inspiradas por Peralta.

Cuando Cervi llegó a España, la enseñanza de la Botánica en Italia tenía una larga tradición desde el nombramiento de los primeros lectores de plantas, habiéndose fundado ya diez Jardines Botánicos. Por ello, no es de extrañar que en la Cédula Real de 1729 se previera la financiación de un socio Botánico y que en las Ordenanzas de 1736 se obligara a la Academia sevillana a disponer de un *Jardín de Plantas medicinales*, si bien el proyecto no se llevó entonces a cabo. El farmacéutico catalán Minuart, amigo y compañero de los botánicos Quer y Vélez, con los que herborizó por las cercanías de Madrid, le dedicó a Cervi en 1739 el género *Cerviana*, de la familia de las Umbelíferas, para agradecerle, con pomposa dedicatoria, la concesión de la apertura de una Farmacia en Barcelona y el nombramiento de socio Honorario de la Real Academia Médica matritense. Posteriormente, el botánico sevillano Rodríguez le dedicaría el género *Cervia*. Este género contiene una sola especie, *Cervia saturejaeformis*, pequeña borraginácea mediterránea relativamente frecuente en Andalucía.

Una actividad significativa de la Academia Médica matritense al iniciarse la segunda mitad del siglo XVIII fue su contribución a la creación del *Jardín Botánico de Madrid*, confiando su organización y dirección a Quer y Minuart. En 1761 falleció José Ortega, alma, corazón y cerebro de la casi legendaria Tertulia literaria y eficaz colaborador en todas sus empresas científicas. Como consecuencia de los avatares de traslados y del incendio que sufrió la Academia, desaparecieron las Actas y documentos correspondientes al interesantísimo periodo para la medicina española de 1752 a 1791.

El Jardín Botánico de Madrid fue fundado en 1755, durante el reinado de Fernando VI, en la Real Huerta de Migas Calientes, decretándose por Real Orden de 1774 –ya en el reinado de Carlos III– el traslado a su actual emplazamiento en el Paseo del Prado, si bien éste no se hizo efectivo hasta 1781. De hecho, fue el cirujano militar franco-español Quer, miembro de la Academia Médica matritense, quien consiguió que se creara el Jardín Botánico, del que fue su primer profesor. Ortega había iniciado ya en 1737 la enseñanza de la Botánica en la Real Academia Médica matritense, siguiendo el sistema de Tournefort. Quer publicó, con los materiales por él allegados en sus herborizaciones por las regiones del Levante, Norte y Occidente de la península y con los manuscritos de la *Flora matritense* de Vélez, cuatro volúmenes de su *Flora española* (1762-1764), siguiendo también el sistema de Tournefort y atacando duramente el sistema sexual de Linneo. Barnades, médico de Carlos III y socio Honorario de la Regia Sociedad de Sevilla, sustituyó a Quer en la dirección del Real Jardín Botánico de Madrid, cuando éste se encontraba aún en Migas Calientes, y publicó unos *Principios de Botánica* (1767), en los que intentó introducir una terminología científica española, siendo el primero en no seguir el sistema de Tournefort.

La utilización del sistema sexual de Linneo y de su sistema de nomenclatura se generalizó en España a finales del siglo XVIII, al ser adoptado por los profesores del Jardín Botánico de Madrid Gómez Ortega y el abate valenciano Cavanilles. En efecto, el verdadero desarrollo del Jardín Botánico tuvo lugar durante el periodo de treinta años (1771-1801) en que fue su primer catedrático el farmacéutico Gómez Ortega, también miembro de la Academia Médica matritense, que había estudiado en Bolonia. Gómez Ortega concluyó a la muerte de Quer su *Flora española*, ordenando los materiales, añadiendo notas e índices, y editando los volúmenes V y VI (1762-1784). Palau, segundo catedrático del Jardín Botánico, publicó *Explicación de la Filosofía y Fundamentos Botánicos de Linneo* (1778) y tradujo la *Parte Práctica de Botánica* del sabio sueco (1784-88). Por su parte, Gómez Ortega publicó una edición latina de la *Philosophia Botánica* de Linneo (1792), que se convirtió en guía de los botánicos españoles, desplazando a las ideas de Tournefort, defendidas por Quer. A Gómez Ortega y Cavanilles les sucedieron, en la dirección del Jardín Botánico, Zea, Claudio Boutelou, Lagasca y Rodríguez.

La Facultad de Farmacia tuvo su origen en el *Real Colegio de Boticarios de Madrid*, creado por Real Pragmática de Felipe V de 1737, confirmando los privilegios de la Congregación del Señor San Lucas y Nuestra Señora de la Purificación, que existía en Madrid desde finales del siglo XVI (1589) y en la que se inscribían los boticarios de la ciudad. En 1685 entró en escena otra institución, la Congregación y Hermandad de

Nuestra Señora de los Desamparados, que protegía a la misma profesión. Las actividades de ambas instituciones se unificaron en 1721 bajo el nombre de Congregación de Nuestra Señora de los Desamparados y Señor San Lucas. En la primera fase congregacional se ha de destacar en especial la declaración en 1650 de la Farmacia como “arte científico” y no gremial por la Real Pragmática de Felipe IV, quedando los boticarios sujetos al *Tribunal del Real Protomedicato*, donde se examinarían los aspirantes. El Tribunal del Protomedicato reconocía la suficiencia de los que aspiraban a ser médicos y concedía las licencias para el ejercicio de dicha profesión. Desde entonces gozarían los boticarios de las mismas gracias y prerrogativas que los médicos

El Real Colegio de Farmacéuticos tenía funciones académicas, y en 1751 se establecieron las primeras lecciones de Botánica –cimiento de lo que más tarde sería la Facultad de Farmacia–, principal objeto de su vida corporativa. El conqueñense Cristóbal Vélez, secretario del Colegio, fue su primer profesor. Más tarde se ampliaron las clases a Química y Farmacia. En 1780 adquirió el Colegio una casa en propiedad, donde Gómez Ortega, figura destacada de la Corporación, construyó un excelente Laboratorio Químico y un Jardín de Plantas e instaló espléndidamente las enseñanzas de Farmacia. El Real Colegio de Farmacéuticos se instaló en 1830 en el edificio de la calle de la Farmacia, construido por suscripción nacional entre todos los farmacéuticos, y tuvo a su cargo durante casi un siglo, desde 1751 hasta 1845, las enseñanzas farmacéuticas en pleno funcionamiento hasta que entregó a la Universidad una Facultad. Hace cuatro años tuve el honor de ser invitado por la *Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense* –donde había realizado los estudios de Licenciatura y recibido el grado de Doctor– para pronunciar una conferencia en los actos organizados para conmemorar el 150 aniversario de su fundación en 1845.

El Real Colegio consiguió en 1932 que el Gobierno aceptase el cambio de denominación por el de *Academia Nacional de Farmacia*. Finalmente, en 1946, la *Real Academia de Farmacia* se incorporó al *Instituto de España*, conservando el espíritu de su fundación: “Cultivo y adelantamiento de la Farmacia, Química, Botánica e Historia Natural”, y en 1967, una vez terminadas las obras de reforma y adaptación del antiguo edificio, situado en la calle de la Farmacia, inauguró solemnemente su sede actual. La Real Academia de Farmacia se divide en cinco sesiones: Ciencias Físico-Químicas, Ciencias Biológicas, Farmacotecnia, Higiene y Sanidad, e Historia, Bibliografía, Legislación y Deontología. El día 8 de Abril de 1999 tuve la satisfacción de leer mi discurso de ingreso como primer Académico de Honor de la Real Academia de Farmacia, tras ser presentado a la Corporación por su presidente D. Julio Rodríguez-Villanueva.

* * *

Conocí –sin casi saber quien era– al profesor Ruiz Berraquero una tarde en que impartía en un Colegio Mayor femenino de la Avenida de la Palmera una amenísima conferencia sobre “los microbios buenos”, es decir, los que no producen enfermedades, sino por el contrario alimentos, bebidas y fármacos tan antiguos como la civilización y que tanto han contribuido al bienestar y la felicidad de la humanidad. ¡Que sería

de los hombres, en general, y de los andaluces, en particular, sin pan, vino, cerveza, aceitunas, queso ni jamón, cuando estamos sanos, ni sin antibióticos, cuando caemos enfermos! Los bioquímicos, y yo muy concretamente, que realicé mi tesis doctoral sobre genética-bioquímica de levadura en el Laboratorio Carlsberg de Copenhague, sabemos además muy bien que nuestra ciencia se inicia en 1897 –en contra del dogma pasteuriano entonces imperante de que las actividades vitales están indisolublemente unidas al mantenimiento de la estructura de la célula íntegra– con el descubrimiento casual de la fermentación del azúcar por extractos acelulares de levadura.

Desde que le conocí, tengo catalogado intelectual y humanamente a Francisco Ruiz Berraquero –y el tiempo me ha confirmado en mi impresión inicial– como un ilustrado y agraciado sucesor del abate Marchena y de los Quintero, y como un “buenazo”, término que se corresponde a la perfección no sólo con su carácter bonachón y amable de hombre cabal y de bien, sino con su robusta corpulencia y su descomunal envergadura, parejas con su buen comer y beber. Atestiguan los que conocen bien la historia, tradiciones y leyendas de la ciudad de Utrera –“villa edificada en un sitio llano y descubierta y de alegre, templado y saludable cielo”, como certificaría el insigne sacerdote, escritor y arqueólogo Rodrigo Caro– que uno de sus hijos, capitán de los tercios del emperador Carlos V, desquijará un león en el cerco de Argel y domaba caballos sujetándolos entre las piernas colgado a pulso de una viga, por lo que todos rehuían darle la mano, ante el temor de que les triturara los dedos al apretar.

Cuántas veces encontraba a Paco en mis caminatas mañaneras hacia la Facultad de Biología haciendo “footing” por la avenida de la Reina Mercedes, sudoroso y jadeante, encubierto su “torso de Pavarotti” en un inmenso chándal azul, me venía a la imaginación el poderío de su paisano el “forzudo” y la fortaleza de los fornidos picadores de la hermosa tierra utrera, famosa entre las famosas por sus feraces y espaciosas dehesas de arrogantes y pletóricas reses bravas y de soberbios y nobles caballos. A su rotunda fortaleza física añade Paco una fina y rica fisonomía campechana, entreverada de la salada claridad de Cádiz y del verdor olivarero de Sevilla. Su talante complaciente y dialogador puede, a veces, engañar en apariencia pues cuando –como hombre obligado por sus cargos a ejercer el mando– ríe o sonríe puede esconder una amonestación severa y presagiar un juicio firme e inamovible. Como los valientes gallos ingleses de la cantera utrera, no rechaza nunca la pelea cuando le hurgan o desafían.

Hoy ya sé, con pelos y señales, quien ha sido y es el profesor Ruiz Berraquero, siendo mi grato deber presentarlo en esta solemne ceremonia a la selecta audiencia aquí reunida y resumir ante ustedes su dilatado y rico curriculum científico y humano. Nace Paco Ruiz, como tantos niños andaluces, en un pueblo blanco y amurallado, con imponente castillo y salpicado de iglesias, palacios y conventos, entre ellos uno de los primeros que fundaron las Hermanas de la Cruz, ángeles tutelares que nos edifican y elevan con su abnegación y sacrificio. En las vacaciones y al salir del colegio de monjas del Santo Ángel jugaría en las apacibles tardes utreras por las calles, costanillas, lonjas y plazuelas con otros niños de su edad a romanos, moros y cristianos, civiles y ladrones, a las cruces de Mayo, y a tantos otros juegos como la viva imaginación mediterránea enciende en la infancia en los soleados pueblos del Sur. ¡Qué menos, con

el ejemplo del poeta clásico de la canción “A las ruinas de Itálica” y de la silva “A la villa de Carmona”, el inefable escultor de “El Cachorro”, el generoso bandolero Diego Corrientes, y los “valientes voluntarios” de la batalla de Bailén!

Estudia Paco el Bachillerato en el Colegio de los Salesianos de Utrera, el primero de España, y se impregna de la obra gigantesca y sencilla de don Bosco, al que siempre admirará como hombre, como maestro y como santo. Son años de posguerra, de austeridad, de carencia de casi todo y de felicidad con casi nada. Paco no olvidará nunca el espíritu salesiano de obediencia, disciplina y amor al trabajo, que dejarán en él profunda huella. Sus sentimientos de gratitud a la obra salesiana –que totalmente comparto por la influencia benéfica que ejercieron también sobre mí y tantos niños y jóvenes en Carmona– se verían reforzados durante su posterior estancia en el Colegio Mayor San Juan Bosco de Sevilla.

Tras finalizar el Bachillerato en 1952, y después de deambular durante tres años de dudas e indecisiones –primero en Sevilla, donde se matricula en Derecho, y luego en Madrid, preparando el ingreso en la Escuela Naval–, se orienta de acuerdo con su verdadera vocación universitaria e inicia la carrera de Farmacia en Granada. Un ambiente familiar tranquilo y modesto y el contacto con buena gente le ayudan a realizar con regularidad los estudios de la Licenciatura, que termina en 1962. Como buen conversador y hombre joven y de tertulia, Paco pasa miles de horas charlando y tonteando alrededor de las mesas de los cafés y se enamora perdidamente no sólo de la bellísima ciudad sino de la encantadora Elena, su compañera de Facultad y desde entonces inseparable amiga del alma, con la que se casará y tendrá cuatro hijos (una niña y tres varones).

Marcha a Madrid y es nombrado profesor Ayudante y Adjunto de Geología Aplicada de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense y becario del Instituto de Edafología y Fisiología Vegetal del Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Su ansia de aprender le lleva a simultanear la enseñanza como profesor con el aprendizaje como estudiante, y se licencia en Ciencias Biológicas en la Complutense en 1967. Pasa entonces como profesor Titular y Agregado contratado a enseñar Biología en el Colegio Universitario de Alicante, y se doctora en la Facultad de Farmacia de la Universidad de Granada en 1974, donde inicia su labor profesoral como Agregado interino y Adjunto de Microbiología y completa su formación al lado del profesor Ramos-Cormenzana. Durante dos años (1979-1980) es profesor Agregado y director del Departamento de Microbiología de la Facultad de Biología de Santiago de Compostela, y en 1981 ocupa definitivamente la cátedra de la misma especialidad en la Facultad de Farmacia de Sevilla, donde también ejerce desde entonces como Director del Departamento.

El profesor Ruiz Berraquero ha simultaneado las tareas docentes e investigadoras con el desempeño de altas funciones de gobierno y de política científica, entre las que destacan sus cargos de Vicerrector de Investigación de la Universidad de Sevilla, Director de la Universidad Internacional Menéndez y Pelayo con sede en Sevilla, Rector de la Universidad de Huelva, Director del Centro de Investigaciones Ecológicas y Medioambientales y del Laboratorio de Biología del Plan Andaluz de Investigación, y Presidente de la Ponencia “Ciencias de la Vida” de este Plan. Ha sido también Presidente de la Sociedad Española de Microbiología durante dos cuatrienios (1991-1998). Por otro

lado, hay que destacar la labor editorial desarrollada por Francisco Ruiz Berraquero en el Secretariado de Publicaciones de la Universidad de Sevilla, mereciendo especial mención dos libros en colaboración con el genetista Josep Casadesús: *Microbiología 1990* y *Descifrar la vida* (1994), así como el lanzamiento por Springer de la revista *International Microbiology* (The Official Journal of the Spanish Society for Microbiology), cuyo primer número ha visto la luz en Marzo de 1998..

Las investigaciones del profesor Ruiz Berraquero se han centrado principalmente en la Taxonomía y Genética de las bacterias halofílicas, en colaboración con Rodríguez Varela y Ventosa, a los que dirigió en 1978 y 1980 sus tesis doctorales en la Universidad de Granada y que hoy son catedráticos que encabezan dos magníficos grupos en las Universidades de Alicante y Sevilla, respectivamente. También ha colaborado con Megías, de la Universidad de Sevilla, en el estudio de la fijación simbiótica del nitrógeno atmosférico. Fruto de estas investigaciones ha sido la publicación de numerosos trabajos en las más prestigiosas revistas internacionales de Microbiología. Hoy no se puede dar un paso en la bibliografía de las bacterias halofílicas sin toparse con los nombres del grupo que inició su andadura con Ruiz Berraquero en la Universidad de Alicante, entonces Colegio Universitario, con el estudio microbiológico de las salinas de Santa Pola. A los nombres ya citados hay que añadir el de la doctora Quesada, también alumna del profesor Ruiz Berraquero en Granada. No sólo hay que tener buen ojo para seleccionar a los mejores alumnos, sino que hay que saber trabajar bien con ellos y promocionarlos. Yo no he tenido la suerte de colaborar con Ruiz Berraquero, pero sí con otros utreranos de gran valía científica y humana: Manuel Ruiz-Amil y Joaquín Rivas Florido.

* * *

Dedica el nuevo académico su Discurso de Ingreso a “la sal, el hombre y los microorganismos”, que inicia con una docta, documentada y amena introducción llena de gracia, agudeza e ingenio consagrada a la sal por excelencia, el cloruro sódico, la sabrosa y valiosa sal que ha dado por extensión nombre a todas las sales; una de las sustancias minerales más abundantes de la naturaleza. Por otra parte, la sal es –junto con el agua, el aire, el carbón, el petróleo y otras sales– una de las más importantes materias primas de la industria química. La sal que se extrae del agua de los mares contiene entre un 96% y un 98% de cloruro sódico, y el contenido y la proporción de iones salinos de la sangre humana son los mismos aproximadamente que los del agua del mar, lo que demuestra el origen marino de la materia viva y del hombre, nacidos en su seno.

La biología nació efectivamente vigorosa e ilusionada anclando sus jugosas y penetrantes raíces en el mundo arcano de los aniones y cationes disueltos en el medio acuático, y fue el agua –la molécula a la que yo he dedicado fervientemente mi vida– el “elemento” primordial que hizo y hace posible la vida en nuestro planeta y en otros si la hubiere. Hoy sabemos que son los elementos inorgánicos los que, organizados, constituyen la materia orgánica propia de los organismos vivos, y que es en último término la luz solar la fuente indispensable de energía que impulsa y mantiene la vida.

Toda la materia orgánica fotosintetizada sufre de manera más o menos directa el proceso de la mineralización, al que contribuyen de manera heroica los microorganismos de la biosfera –principalmente bacterias y hongos– encargados de descomponer gran parte de los restos vegetales y animales. Sin su acción no se cerraría el ciclo de los bioelementos primordiales y la vida se detendría. Se calcula que, por lo menos el 90% del CO_2 que se produce en la biosfera se debe a la actividad metabólica de estos dos grupos microbianos. La enorme contribución de los microorganismos al proceso de la mineralización de la materia orgánica resulta de su ubicuidad en la biosfera, su elevada velocidad de metabolismo y crecimiento, su capacidad colectiva para degradar todos los compuestos orgánicos naturales y su omnipresencia como consecuencia de la facilidad con que son diseminados por el viento y el agua. Las aguas superficiales, el fondo de los océanos y las capas superiores del suelo están repletas de bacterias.

El tema elegido por el profesor Ruiz Berraquero está relacionado con su principal línea de trabajo a lo largo de casi veinticinco años: el halofilismo microbiano. Pero el disertador se excusa diciendo que es consciente de que, salvo escasísimas y brillantes excepciones, las aportaciones personales a una determinada materia científica son sólo unos pocos granos de arena entre los de una inmensa playa. De hecho, la situación actual del investigador –individual o integrado en un equipo– es no sólo de insignificancia frente a la inmensa legión de investigadores que compiten en todo el mundo con su misma línea de trabajo, sino de incapacidad para estar al día en su propia especialidad. Esta situación tiende, por lo demás, a convertir al científico –que en el pasado fue un erudito o un sabio– en un ignorante de casi todo, consagrado a la parcela cada vez más limitada de saber en que es especialista. Estas consideraciones –que son válidas para la Ciencia en general– son especialmente vigentes para la Biología en particular, pues hoy se puede afirmar que ningún campo de la ciencia está progresando más rápidamente y en más vastos y diversos horizontes que la Biología, una vez establecidas sus bases físicas, químicas y genéticas.

En la presentación del ya mencionado texto *Microbiología 1990*, los editores recogen un comentario de Max Delbrück –uno de los fundadores de la Biología Molecular, premio Nobel de Fisiología o Medicina de 1969, y maestro de Enrique Cerdá y Arturo Pérez Eslava– que resulta muy apropiado al respecto: “Hoy sabemos que los organismos pueden ser considerados sistemas moleculares, aunque sean de una complejidad enorme. Y para analizarlos cada vez hay métodos más poderosos. Estos métodos están siendo desarrollados con tanta velocidad que es difícil estar al corriente de los resultados que proporcionan. Peor aún: la propia rapidez del progreso de la biología molecular apenas nos deja tiempo para mirar a derecha o izquierda”.

Haber conseguido crear una escuela de prestigio internacional en un campo muy competitivo partiendo de casi nada y en circunstancias muy desfavorables para la investigación científica demuestran un olfato y un entusiasmo en sus artífices realmente dignos de admiración y de elogio. No cabe duda que el grupo investigador liderado por Ruiz Berraquero ha tenido mucha fortuna en la aventura, pero, como decía el gran microbiólogo y padre de la Microbiología, Pasteur: “La suerte sólo favorece a las mentes más preparadas”. El gran desarrollo actual de las bacterias halófilas, como en

general de los extremófilos, se ha debido a tres acontecimientos, que analiza el conferenciante en detalle y sobre los que se centrarán mis comentarios: los viajes espaciales, el “boom” de la biotecnología, y el descubrimiento de que las arqueobacterias tienen una estructura molecular muy diferente a la de los demás procariotas.

La principal aportación de los nuevos métodos para estudiar filogenias –basadas en la comparación de secuencias de ácidos nucleicos de alto grado de conservación, como los rRNA– ha sido sin duda el descubrimiento de las arqueobacterias (procariotas distintos de las eubacterias). En 1977, Woese, Fox y colaboradores sustituyeron la dicotomía procariota-eucariota por la clasificación de todos los tipos de células en tres reinos primarios (urkingdoms): arqueobacteria, eubacteria y eucariota. En el ámbito de la Biología Molecular, el descubrimiento de las arqueobacterias se ha comparado al de un nuevo continente. La mayor parte de lo que se sabe sobre la genética de arqueobacterias se refiere a la especie *Halobacterium salinarum* (a veces denominada *H. halobium*).

Las arqueobacterias presentan algunas características típicas de las eubacterias (pequeño tamaño, tipo de genoma), pero también otras típicas de las eucariotas (presencia de intrones). Por otro lado, las arqueobacterias son los únicos procariotas cuyas paredes celulares carecen de mureína, o peptidoglicano, el heteropolisacárido bacteriano con cuya síntesis interfiere la penicilina. Desde el punto de vista filogenético existen dos troncos principales de arqueobacterias: uno constituido por arqueobacterias dependientes del azufre, que generalmente habitan ambientes termales ácidos y son por tanto termoacidófilos, y otro constituido por dos grupos metabólica y ecológicamente muy distantes: las bacterias metanogénicas –anaerobios productores de metano– y las halobacterias –heterótrofos aeróbicos, extremadamente halófilos–.

Durante la celebración en la primavera de 1975 del VI Congreso de Bioquímica en la Universidad de Sevilla, don Severo Ochoa vino a mi despacho a que le pusiera al día de los últimos descubrimientos en Fotosíntesis y me sorprendió con la siguiente noticia: “¿Sabes, Manolo, que Wolf Vishniac ha muerto en la Antártida?”. Debo aclarar que, a comienzos de 1958, cuando llegué a la Universidad de California para iniciarme en el estudio de la fotosíntesis, no podía imaginar siquiera que el profesor Ochoa –casi desconocido entonces en nuestro país– era una de las máximas autoridades en el campo de la función clorofílica. Vishniac y Ochoa y mi maestro en Berkeley, Arnon, habían descubierto en 1951, simultánea e independientemente, una de las reacciones claves de este complicado y trascendente proceso bioquímico: La fotorreducción del piridín nucleótido por el agua, concomitante con el desprendimiento de oxígeno molecular.

La formulación en 1959-1961 por Arnon y Losada del paralelismo existente entre la electrolisis del agua, por vía química, y la biofotoelectrolisis del agua, tal como la realizan las plantas oxigénicas, representó un cambio fundamental respecto al mecanismo de la biofotólisis del agua –propuesto por el microbiólogo holandés-estadounidense van Niel– y un notable avance en el esclarecimiento del proceso fotosintético como flujo no cíclico de electrones contra gradiente, promovido por la luz y sensibilizado por el pigmento fotoactivo clorofila. El concepto de transporte de electrones inducido por la luz es desde entonces uno de los más importantes en fotosíntesis.

Para Ochoa, el problema de la fotosíntesis parecía quedar definitivamente resuelto, pues, como padre de la fosforilación oxidativa, pensó que las mitocondrias quemarían parte del poder reductor sintetizado por los cloroplastos con el oxígeno concomitantemente liberado, suministrando así el ATP requerido para la asimilación del dióxido de carbono por el ciclo reductivo de las pentosas-fosfato, descubierto en Berkeley por Calvin en la década de los 50 y que le valió el premio Nobel de Química en 1961. Arnon no aceptó, sin embargo, la simple conclusión de Ochoa y asombró al mundo científico con el descubrimiento en 1954-1958 de la fosforilación fotosintética, o foto-fosforilación, proceso que conduce a la síntesis por los cloroplastos de los enlaces de pirofosfato ricos en energía a expensas de la energía de la luz, es decir, a la energetización del ortofosfato a metafosfato.

En 1961, el bioquímico británico Mitchell propuso su brillante teoría quimiosmótica de que la energía redox de los sistemas fotosintéticos y respiratorios se acopla con la síntesis de ATP a nivel de membrana tilacoidal o mitocondrial a través de un gradiente electroquímico de protones transmembranal. La teoría de Mitchel postula esencialmente que la fosforilación es el resultado de la neutralización del potencial electroquímico ácido-base de protones creado por el transporte de electrones durante la fotosíntesis y la respiración. Los mecanismos de una y otra transducción energética son dos de los grandes retos, todavía en parte pendientes, de la moderna Biología. Mitchell recibió el premio Nobel de Química en 1978, y los bioquímicos estadounidense Boyer, británico Walker y danés Skou fueron galardonados también con el premio Nobel de 1997 por sus contribuciones al esclarecimiento parcial de estos mecanismos.

Curiosamente, la hipótesis de Mitchell recibió uno de sus más firmes espaldarazos con el inesperado descubrimiento en 1971 por Stoeckenius y Oesterheldt de un nuevo tipo muy simple de fotosíntesis que realizan las arqueobacterias del género *Halobacterium*. El profesor Ruiz Berraquero se ha referido a esta interesante facultad de algunas especies de halófilos extremos de realizar una síntesis de ATP, a expensas de la luz, sin intervención de pigmentos clorofílicos ni en consecuencia de flujo de electrones. Las investigaciones de Stoeckenius se iniciaron en 1964 y condujeron, primero, al descubrimiento de la fabricación por las células de *Halobacterium* de los "parches" de la membrana purpúrea cuando las células crecen en la luz a bajas concentraciones de oxígeno y, después, a la presencia del pigmento fotoactivo bacteriorrodopsina, inserto en esta fracción purpúrea de la membrana plasmática.

En 1933, el bioquímico americano Wald había descubierto que la vitamina A está presente en la retina del ojo, y estableció su relación con el pigmento fotosensible de las células visuales al demostrar que el carotenoide amarillo 11-*cis*-retinal (el derivado aldehídico de la vitamina A) se une a la proteína incolora opsina constituyendo la cromoproteína rodopsina. Wald y sus colaboradores descubrieron en 1958 el evento inicial de la excitación visual: la isomeración *cis-trans* del grupo cromóforo de la rodopsina por la luz. Wald fue galardonado en 1967 con el Premio Nobel de Fisiología o Medicina. El 11-*cis*-retinal se une químicamente a la opsina mediante un enlace de base de Schiff entre el grupo aldehídico del retinal y el grupo ϵ -amino del residuo 296 de lisina de la proteína. Una base de Schiff no protonada presentaría un máximo

de absorción a 380 nm, mientras que una vez protonada absorbería la luz a 440 nm ó mayores longitudes de onda. El máximo de absorción que presenta la rodopsina a 500 nm corresponde a un fotón de 2,5 eV y revela claramente que la base de Schiff de esta cromoproteína está protonada y que interacciones adicionales desplazan el pico hacia el rojo. Cuando la luz visible incide sobre el pigmento visual, el 11-*cis*-retinal se isomeriza a 11-*trans*-retinal, que se separa de la rodopsina. La isomerización *cis-trans* va acompañada de un cambio de conformación molecular que determina un impulso nervioso que se transmite al cerebro y se percibe como visión.

Las investigaciones de Stoeckenius y Oesterheldt demostraron que el 11-*cis*-retinal es también el grupo cromóforo de la bacteriorrodopsina, la fotobomba de protones de las halobacterias. Cuando escasea el oxígeno y las células no pueden obtener energía por respiración, las halobacterias desarrollan este simple mecanismo fotosintético de bombeo de protones para la síntesis del enlace de pirofosfato del ATP. En la bacteriorrodopsina de la membrana plasmática purpúrea de la célula halobacteriana, el 11-*cis*-retinal se une por un enlace de base de Schiff al residuo 216 de lisina de esta proteína de 26 kDa y siete α -hélices transmembranales. El ciclo de bombeo de protones se inicia con la excitación de la bacteriorrodopsina en su forma *cis*-protonada, y en él participan varios grupos ácido-base (aspartato y arginina) de la cadena polipeptídica. El cambio de conformación que produce la isomerización *cis-trans* del retinal determina en último término que el protón unido al nitrógeno de la base de Schiff se transfiera al grupo imino de la arginina y sea finalmente liberado al medio extracelular a bajo pH, en tanto que un protón del medio intracelular es fijado a alto pH por el grupo carboxilo de otro residuo de aspartato por el lado citosólico. Una molécula de bacteriorrodopsina bombea hacia cien protones por segundo en luz intensa. La energía del potencial electroquímico de protones así creado se utiliza después para la síntesis de ATP por la ATP sintasa de la membrana plasmática.

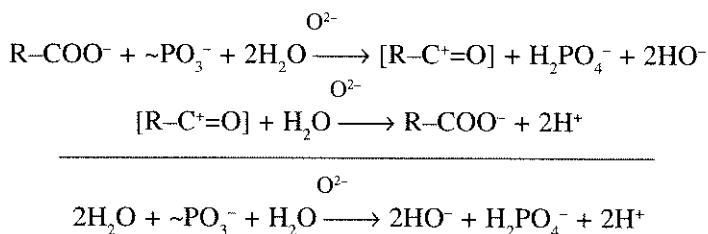
La trascendencia de la función de la clorofila como sistema transductor de energía luminosa en energía electrónica redox no tiene parangón en el mundo vivo. Sin embargo, desde un punto de vista científico evolutivo y mecanístico, el descubrimiento de la existencia de otro pigmento fotosintético, la bacteriorrodopsina, que permite la transducción directa de la energía luminosa en energía ácido-base, ha supuesto uno de los grandes avances –inesperado por otra parte– de la bioenergética y de la ciencia.

En la clorofila, la energetización por un fotón de la forma reducida del correspondiente par redox determina la disminución del potencial de éste, lo que permite la transferencia de electrones de baja energía, procedentes de donadores de electrones a alto potencial, a aceptores de electrones de bajo potencial, que reciben electrones de alta energía; en resumen, la subida cuesta arriba de electrones de un donador a un aceptor contra un gradiente de potencial a expensas de la energía de la luz. En la bacteriorrodopsina, por otra parte, la energetización por un fotón de la forma protonada del correspondiente par ácido-base determina, en último término, la disminución del pK_a de éste, lo que permite la transferencia y translocación de protones desde el alto pH del citosol al bajo pH del medio externo; en resumen, la subida cuesta arriba de protones contra un gradiente de concentración y la creación de un potencial electroquímico de protones a expensas de la energía de la luz.

La fotosíntesis de la bacteriorrodopsina representa un nuevo e independiente capítulo que añadir al de la fotosíntesis clorofílica, trayendo en conjunto a primer plano la relevancia en bioenergética de las tres partículas elementales: fotón, electrón y protón. Los grandes microbiólogos holandeses Kluver y van Niel hicieron constar en *The microbe's contribution to Biology* (1956) que “la característica más esencial del estado viviente es la existencia en los orgánulos de la célula de una corriente continua y dirigida de electrones”. Después de la formulación y demostración del flujo de electrones inducido por la luz en todos los tipos de fotosíntesis clorofílica (anoxigénica y oxigénica), de la confirmación de la teoría quimiosmótica de Mitchell en todos los tipos de respiración y fotosíntesis, y del descubrimiento de la fotobomba de protones en las halobacterias, no cabe duda de que la transducción directa o secuencial de energía luminosa en energía redox de electrones y energía ácido-base de protones constituyen la esencia de los procesos primarios y universales de la bioenergética.

En 1977, como resultado de nuestras investigaciones en bioenergética, propusimos un mecanismo para la fosforilación que más tarde, en 1985, pudo ser elaborado y generalizado. Al comentar esta teoría unificada sobre la transducción de energía por los sistemas bioquímicos, D. Severo Ochoa me escribió entonces: “Te felicito y me felicito, como español, por tu magnífico trabajo y por el establecimiento del concepto unificado de transducción de energía, que para mí ya no es tan fácil de comprender pero en el que veo una belleza y una “simplicidad” que me atraen. Sigue así para orgullo y satisfacción de tus amigos”.

A lo largo de los últimos años, la evidencia experimental a favor de esta teoría unificada ha ido “in crescendo”, especialmente a partir de 1993, cuando en colaboración con el Dr Serrano, que dirige el grupo de Bioenergética del Fosfato en nuestro Instituto de Bioquímica Vegetal y Fotosíntesis, pudimos presentar datos concretos sobre el mecanismo de la utilización de la energía del metafosfato para la disociación del agua en iones hidronio e hidróxido, empleando un sistema enzimático modelo reconstituido. Fue entonces la primera vez que la teoría quimiosmótica de Mitchell se pudo explicar, en principio, en términos químicos, por un simple mecanismo reversible de acoplamiento ácido-base que implica la ionización del agua por transferencia de un anión óxido entre los pares metafosfato-ortofosfato y catión acilio-anión carboxilato:



Ochoa fue el primero en observar a mediados de siglo que el pirofosfato es un constituyente celular. Recientemente, los grupos de Baltscheffsky, en Suecia, y de Rea, en Estados Unidos de Norteamérica, han demostrado la existencia, en las membranas

de las bacterias fotosintéticas anoxigénicas y de las vacuolas de las plantas superiores, respectivamente, de una pirofosfato sintasa (pirofosfatasa) que cataliza reversiblemente la síntesis (hidrólisis) del pirofosfato inorgánico acoplada con la utilización (generación) de un potencial electroquímico de protones, habiendo además secuenciado recientemente los correspondientes genes. En nuestro Instituto, el grupo del Dr. Serrano ha encontrado que la pirofosfatasa translocadora de protones y el gen que la codifica están igualmente presentes en todos los miembros del linaje evolutivo de los organismos fotosintéticos, pasando por las cianobacterias y las microalgas, así como en eubacterias (*Thermotoga*) y protistas no fotosintéticos muy diversos, tanto parásitos como de vida libre.

El hecho de que la PPasa (PP sintasa) de H^+ de membrana –una proteína homodimérica con subunidades de 70 kDa– presente una gran simplicidad estructural respecto a las complejas ATPasas (ATP sintasas) F_0F_1 puede ser de gran utilidad para el esclarecimiento definitivo del mecanismo de transducción de un potencial electroquímico de protones en la energía química del enlace pirofosfato del ATP (ADP~P) ó del propio pirofosfato inorgánico (P~P). Por otra parte, se aceptaba, de acuerdo con uno de los requisitos básicos de la teoría de Mitchell, que las ATPasas de tipo F_0F_1 (cloroplástica, mitocondrial o bacteriana) no forman intermediarios fosforilados. Sin embargo, recientemente se ha puesto de manifiesto que las ATPasas vacuolares, que son también del tipo F_0F_1 , sí fosforilan un residuo de aspartato, así como también lo hacen las típicas ATPasas de tipo P de la membrana plasmática de plantas y hongos, que operan igualmente como bombas de protones.

Por lo que respecta específicamente a los microorganismos del grupo de las arqueobacterias halófilas (por ejemplo, *Halobacterium*), la identificación de posibles PPasas de H^+ sería la primera evidencia de una bioenergética primordial basada en los sistemas fotobioquímicos más sencillos imaginables para convertir la energía luminosa, a través de bacteriorrodopsina, en energía química de pirofosfato. A este respecto hay que hacer constar que, durante el desarrollo del proyecto genoma de la arqueobacteria termofílica *Pyrobaculum aerophilum*, se acaba de identificar un gen con alta homología con las PPasas de H^+ .

* * *

Sevilla es una provincia agropecuaria, cuyas mayores fuentes de riqueza son –aparte de su gente y su biodiversidad– el sol, el agua, el aire y la tierra. A las generaciones del nuevo milenio les toca a partir de ahora sacar el máximo provecho con el mínimo daño de la explotación de tan maravillosa herencia natural y humana, para así aumentar su bienestar en todos los aspectos sin despilfarrar nada ni degradar un ápice tan privilegiado entorno. La Academia Sevillana de Ciencias se felicita hoy al dar la bienvenida a su Sección de Ciencias de la Tierra al más joven y flamante de sus Académicos, y espera que contribuya con su buen saber y bien hacer a lograr estos nobles y ansiados objetivos para mayor gloria de Sevilla, Andalucía, España y la humanidad.