

EXPERIMENTACIÓ I CONEIXEMENT

RAMON PARÉS I FARRÀS



UNIVERSITAT DE BARCELONA



EXPERIMENTACIÓ I CONEIXEMENT

Un Comiat Acadèmic

RAMON PARÉS I FARRÀS

Publicacions i Edicions



UNIVERSITAT DE BARCELONA



*L'autor dedica aquest Comiat Acadèmic a tots els que han contribuït
a fer possible que mantingués inalterable durant tants anys
l'emoció d'aprendre, experimentar i ensenyar.*

PRÒLEG

Sembla molt senzill, per a un professor universitari, fer el pròleg d'un llibre que porta per títol *Experimentació i coneixement*, al cap i a la fi d'això en sabem tots. Molt al contrari, resulta no només difícil, sinó fins i tot arriscat, ja que un ha de jutjar, en el fons, una part molt important de la seva pròpia experiència. El risc es multiplica si l'autor és una personalitat com el professor Ramon Parés qui, en el món acadèmic, necessita de poques presentacions. I encara més si qui ha de fer aquest pròleg és el degà de la Facultat que commemora els seus 25 anys en la seva ubicació actual i l'autor del llibre va ser el degà que posà la primera pedra de l'edifici des del qual escric aquestes paraules.

El llibre del professor Parés ens enriqueix ja des de l'índex. Reconegut microbiòleg de gran prestigi, el professor Parés ens planteja una sèrie de reflexions sobre l'experimentació i el raonament lògic, que van des de la geometria a l'ecologia, sempre realitzades des del prisma de la microbiologia. Hi ha mèrit més gran per a un científic que obrir els seus coneixements, obtinguts després de tota una vida d'especialització, a altres camps aparentment tan poc relacionats amb el seu? En una època d'hiperinflació de coneixements i informació com l'actual, obligatòriament marcada per la necessària especialització dels científics en dominis molt particulars, exemples com els que es presenten en aquest llibre resulten particularment il·lustratius i encoratjadors.

Perquè, exactament, què és el que ens ha d'aportar el nostre cabal d'experimentació i coneixement i què és el que podem aportar a la societat des d'aquesta experiència? És evident que el progrés de la ciència es sustenta en cada dada experimental obtinguda dia a dia en tots els laboratoris i centres d'experimentació del món. Atès l'actual nivell de complexitat de la majoria d'àmbits científics, perquè aquesta recerca "de laboratori" tingui la qualitat imprescindible, cal que els investigadors que la duen a terme siguin autèntics especialistes dels seus camps científics i que aquests siguin cada vegada més concrets i definits. La ciència o és reduccionista o no és, aquesta propietat rau en la base del mateix concepte del mètode científic. Aquesta aproximació a la naturalesa de les coses garanteix un avenç continu, gairebé diari, gràcies als experiments de milers d'investigadors arreu del món.

El que realment té mèrit, i en aquest llibre el professor Parés ens ho posa ben de manifest, és combinar aquesta especialització de l'investigador amb la clari-

vidència i obertura de mires del pensador. En aquest cas, l'avenç de la ciència, del coneixement en general, es fa a passos de gegant. Quan hom pot transferir les lliçons apreses del coneixement especialitzat a problemes procedents d'un altre camp del saber, aquest segon s'enriqueix de l'experiència obtinguda al primer i és quan es poden trencar vells paradigmes i oferir una visió nova sobre el problema, que sovint porta a solucions fins poc abans totalment insospitades. Un magnífic exemple d'això el trobem al capítol 5 d'aquest llibre, on s'exposa de quina manera els experiments i els coneixements especialitzats es posen al servei d'altres camps, com ara l'ecologia, la sanitat pública i l'urbanisme. Quin millor servei pot retre la ciència a la societat de la qual forma part que retornar-li l'esforç i les inversions fetes en recerca en forma de millores socials de les quals en gaudeixin tots els seus ciutadans?

D'aquest contrast entre la visió immediata de la ciència quotidiana, de l'avenç experiment a experiment, dada a dada i la visió àmplia i de grans horitzons dels qui poden abastar grans camps científics sorgeix el veritable progrés del coneixement. Un exemple de plena actualitat és el desenvolupament, aquests darrers anys d'un nou enfocament sobre la Biologia, l'anomenada Biologia de Sistemes o Biologia Integrativa. No es tracta, en sentit estricte, de cap nova disciplina de les biociències, sinó d'una aproximació molt ambiciosa que combina els milers de dades experimentals individuals recollides al llarg de molts anys d'experimentació científica amb la potència de l'anàlisi informàtica i de noves teories de la informació, derivades especialment del camp de les matemàtiques, amb una finalitat única: entendre la cèl·lula (i, per tant, la vida) com a sistema en funcionament. En resum, es tracta de generar Coneixement a partir de tornar a ajuntar les peces que la necessària aproximació reduccionista de l'Experimentació ens ha permès d'entendre durant molts anys. Serà possible que aquesta conjunció d'esforços científics, més reduccionistes uns, més globals els altres, ens reveli finalment els secrets de la vida?

Per concloure aquest pròleg, només voldria fer una darrera reflexió. L'aparició d'aquest llibre coincideix amb la commemoració dels 25 anys de la seu de la Facultat de Biologia al Campus Diagonal Portal del Coneixement (campus de Pedralbes, com sempre l'havíem anomenat, i suposo que així ho continuarem fent). L'evolució dels conceptes exposats pel professor Parés al llarg d'aquest llibre no va tenir lloc en un Parnàs atemporal i eteri, sinó en una Facultat viva, viva pels membres que la formen, un planter de professors universitaris, investigadors, estudiants, administratius i tècnics que han protagonitzat (i molt sovint, han "patit") aquesta evolució durant aquests 25 anys. Però també és una Facultat físicament "viva" (permeteu-me les cometes, per a un biòleg es fa difícil de dir, ni que sigui en metàfora, que un edifici estigui "viu"). Fent, en certa manera, de paleontòlegs aficionats, aquesta evolució de la biologia dels darrers 25 anys la podem trobar escrita a les parets de la nostra Facultat. Aquell edifici inaugural comptava només amb 6 aules, amb les quals es podia fer front a tot el que de biologia es podia ensenyar al seu moment, i amb 10 departaments, en els quals es recollia tot el saber biològic de què érem capaços –si ara ens haguéssim de plantejar dissenyar un nou edifici Margalef, quantes co-

ses no canviàriem?—. Poc després, l'augment de l'interès social per la biologia i l'expansió d'altres sectors "biològics" va fer imprescindible la construcció d'un nou edifici, l'Aulari, i, finalment, l'expansió de tots els nostres departaments va requerir la construcció d'un nou edifici, l'Annex, just en el moment en què l'evolució de la biologia ens porta a desdibuixar, cada cop més, les fronteres de coneixement entre departaments.

Potser el "vestigi" més evident de com ha evolucionat la biologia al llarg d'aquests 25 anys el trobem en el que, al seu moment, era una de les joies de la recerca al nostre entorn, un magnífic microscopi electrònic al qual els alumnes que vàrem estrenar aquesta Facultat ara fa 25 anys teníem vetat l'accés i només sentíem parlar d'ell a classe, en uns dibuixos fets amb guix a la pissarra, que, tot i el bon art dels nostres professors, feien molt difícil entendre què era allò del feix d'electrons. Actualment, aquest microscopi ret el seu darrer servei a la comunitat científica, exposat a la curiositat de tothom a l'entrada d'un dels nostres edificis.

Preparem-nos, doncs, per a 25 anys més d'Experimentació i Coneixement.

Barcelona, octubre de 2007

F. Javier Casado Merediz
Degà de la Facultat de Biologia
Universitat de Barcelona

ÍNDEX

PRÒLEG	9
1. EL DISCURS DE SANT ALBERT	15
1.1. Fent memòria de sant Albert Magne	15
1.2. La lliçó de fa quaranta anys	16
1.3. Una dissociació colonial bacteriana amagada	17
1.4. Resistència als antibiòtics i virulència dels patògens	18
1.5. El vell concepte de Winogradsky sobre els inorganoxidants	20
1.6. El fenomen de la microheterogeneïtat molecular	21
1.7. Els eucariotes unicel·lulars	22
1.8. El comiat acadèmic de Lord Kelvin	24
1.9. Un problema de geometria	24
2. UNA DEMOSTRACIÓ GEOMÈTRICA	27
2.1. La demostració absoluta	27
2.2. El problema dels tres punts arbitraris interiors d'una circumferència ..	30
2.3. Reflexionant sobre la circumferència d'Apol·loni	37
3. EL PROBLEMA D'UNA DISSOCIACIÓ COLONIAL BACTERIANA AMAGADA	39
3.1. La demostració experimental	39
3.2. Teoria del creixement per divisió binària	41
3.3. El fenomen de l'heterogeneïtat colonial de 'Klebsiella pneumoniae' C3 creixent en M_1	44
3.4. La hipòtesi del dualisme fenotípic	46
3.5. La demostració experimental de la diversitat fenotípica en la descendència clonal	47
3.6. L'evidència directa dels dos fenotips	52

3.7. Fisiologia múltiple en els bacteris de l'hidrogen	56
3.8. L'expressió del cos 'R' en les partícules 'kappa' i del cos refringent d'un bacteri lliure	57
4. SOBRE LA MIXOTRÒFIA DE 'CHLORELLA'	61
4.1. El desenvolupament mixotròfic dels microorganismes	61
4.2. Assimilació oxidativa i fotoquímica de la glucosa en 'Chlorella'	63
4.3. Efecte de la glucosa sobre la fixació autotròfica de $^{14}\text{CO}_2$	65
4.4. Obtenció de soques de 'Chlorella' que no poden créixer autotròficament	67
4.5. Utilització d'altres substrats orgànics	69
4.6. Efecte de la glucosa sobre el sistema pigmentari de 'Chlorella'	70
4.7. Efecte de la glucosa sobre la fotosíntesi i la respiració en sistemes de cèl·lules no proliferants	72
4.8. Conclusions que es poden derivar dels experiments referits	76
4.9. Corol·lari	79
5. EVOLUCIÓ DEL LITORAL BARCELONÍ: LA PERSPECTIVA D'UN MICROBIÒLEG	81
5.1. La presència de virus a l'aigua de mar com a porta d'entrada	82
5.2. Els bacteris enteropatògens	85
5.3. L'increment de clorofil·la 'a' en l'aigua litoral	90
5.4. Els indicadors fecals i les obres del Pla de Sanejament del Litoral ...	91
5.5. Control remot de la qualitat de l'aigua litoral	97
5.6. La deposició prodeltaica	106
5.7. Corol·lari	112

1. EL DISCURS DE SANT ALBERT

1.1. Fent memòria de sant Albert Magne

Certament, em sento honorat i em complau molt haver estat escollit per fer la lliçó de la festa de sant Albert Magne. Hauria estat el mateix en qualsevol altra ocasió de la meua vida acadèmica, però ho és més ara, en la situació de catedràtic emèrit d'aquesta universitat i després de quasi vuit anys de la jubilació reglamentària. Ho considero un veritable privilegi. Per tant, i en primer lloc, vull manifestar el meu sincer agraïment a tota la Facultat de Biologia i, particularment, als responsables de la meua designació.

Donades aquestes circumstàncies, voldria començar la meua lliçó amb una breu al·lusió a la figura de sant Albert Magne que, en aquest dia més que en cap altre, no cal pas justificar.

No podem oblidar que Albert Magne és una personalitat emblemàtica del Renaixement cristià del segle XIII, el segle de l'escolàstica i de les universitats, quan tot l'Occident llatí experimentà un gran canvi social, potser impulsat pel fenomen urbà i la internacionalització del comerç.

Sens dubte, sant Albert és un dels pilars de l'escolàstica, però també cal considerar-lo com un dels pocs homes que en el seu temps tornaren els seus ulls cap a l'estudi directe de la natura. Ens ha deixat grans obres d'història natural que, a part de permetre'ns conèixer molt dels sabers d'aquells temps, ens manifesten quelcom d'un desvetllament intel·lectual que, ben segur, transcendí eficaçment a molts dels homes que vingueren després.

Tots sabem que el pas de l'edat mitjana a la moderna se situa al Renaixement pròpiament dit, entre els segles XV i XVI, però aquest no pot pas considerar-se deslligat del Renaixement cristià del XIII, sinó com una pura continuació. Fins i tot, en molts aspectes, els homes dels inicis de la revolució científica, al final del segle XVI i principis del XVII, es troben més pròxims al pensament de sant Albert i d'alguns altres pensadors de la mateixa època, com Guillem d'Occam i Roger Bacon, que no pas dels mateixos humanistes del seu temps que, i no m'equivoco, no tenien gran simpatia per un autèntic despertar científic, i que constituïen més aviat una reacció contra el corrent arabitzant de l'època.

Deixant ja Albert Magne, voldria manifestar, per cloure'n l'al·lusió, que es dona el cas que, justament fa quaranta anys, el 15 de novembre de 1965, també em va tocar fer aquesta preceptiva lliçó patronímica, llavors de la Facultat de Ciències, perquè no hi havia encara cap facultat de biologia a l'Estat espanyol.

1.2. La lliçó de fa quaranta anys

Aquella conferència, llegida en castellà naturalment, portava el títol *Algunos aspectos de la integración de la Genética y la Bioquímica a nivel del microbio* i retrobar-ne el text entre els vells papers no m'ha estat pas fàcil, però, havent-ho assolit, no volia pas deixar-lo de banda, sobretot tenint al davant l'expectativa de poder fer un excepcional capicua al llarg de quasi tota la meua carrera acadèmica.

Des de la primera ullada em van cridar l'atenció moltes coses. Una d'elles, haver fet notar que, mirant el material utilitzat en els treballs bioquímics publicats de 1940 a 1960, es troba que més de la meitat són sobre llevat, múscul de colom i *Escherichia coli* i que, a partir dels anys seixanta, aquests darrers creixeren tant que es posà de moda a tot el món el nom d'*ecoliquímics* per designar els membres d'un col·lectiu, també cada cop més gran, de bioquímics que només havien treballat amb aquest bacteri, i que posaven cara de no estar interessats a fer-ho en cap altra cosa. També es pot llegir, però, que els estudis sobre fotosíntesi i fixació de nitrogen donaven un gran tomb i que aquests no utilitzaven *Escherichia coli* sinó altres models, tot i ser també un nombre reduït.

En la mateixa conferència de 1965 es crida l'atenció sobre el fet que, malgrat els pocs models d'organismes utilitzats, cada cop era més palesa l'abundància de reaccions i vies metabòliques comunes, tal com ja havien previst Kluyver i Donker el 1931, que establiren l'anomenat "principi de la bioquímica unitària", que tant havia de contribuir a l'acceptació general de la idea d'un parentesc i origen comú per a tots els éssers vius del planeta. A més a més que, donada la relativa simplicitat dels microorganismes, també es feia cada cop més suggestiva la hipòtesi que aquests havien d'ocupar un lloc molt proper a la base de l'escala evolutiva.

En un altre punt del mateix text es fa igualment referència al fet que les conclusions anteriors van portar molts microbiòlegs a interessar-se més i més pel problema de l'origen de la vida, sentint-se especialment responsables de la contradicció que representava el seu rotund no a la generació espontània, que ja incloïa els virus, que ells mateixos havien establert, enfront d'una visió dels microbis com a possibles representants actuals més propers al salt de la matèria no viva a la viva. Que la suposició que els quimioautòtrofs i els fotoautòtrofs fossin els progenitors de totes les formes de vida, atès que són els únics microorganismes que es desenvolupen en un medi completament mineral, havia de ser desestimada, perquè, a mesura que augmentava el coneixement de les reaccions bioquímiques que tenien lloc en aquests tipus de vi-

da, es veia que eren els organismes amb més capacitat biosintètica i, per tant, amb una composició enzimàtica tremendament elaborada. Consegüentment, si la vida havia de començar amb un sistema molt simple, passava a ser completament obligat considerar que només podia haver estat en un medi complex. Això donaria també una possibilitat d'explicació neodarwiniana de l'evolució bioquímica, que aniria sempre del producte final al substrat metabòlic precursor i no al revés, com ja molt intel·ligentment havia propugnat Horowitz. Que una i altra hipòtesi portaren a postular l'evolució orgànica prebiòtica i una evolució bioquímica posterior en els microbis o bé, com a mínim, en els seus precursors immediats. Allà s'afirma també, seguint Van Niel, que això permetria veure l'origen de la vida com la simple manifestació de les propietats de la matèria quan s'arriba a un determinat grau de complexitat, en el context de la teoria general dels successius nivells d'integració. He cregut que era bo recordar tot això perquè continua essent bàsic, encara que aleshores era més fresc.

En la resta de la lliçó hi podem trobar els cèlebres experiments de Beattie i Tatum amb *Neurospora crassa*, publicats l'any 1941, que establiren el principi d'"un gen, un enzim" tan important per establir la relació entre genètica i bioquímica. També la seva aplicació als bacteris i l'ús de les mutants bioquímiques, l'auxotròfia i la sintròfia o alimentació creuada.

En la resta s'exposa sinòpticament l'adaptació enzimàtica i els fenòmens de transformació, transducció i conjugació, per acabar amb els mecanismes de regulació metabòlica més extensament, potser perquè en aquell moment es trobaven particularment estimulants. Naturalment, tot el que allí es diu sobre aquests temes és avui molt conegut i gairebé après de forma canònica. Llavors ens semblava que tot just s'acabaven de coure.

1.3. Una dissociació colonial bacteriana amagada

La lectura del vell discurs de Sant Albert em va portar a la memòria que en aquella època treballava, des de feia temps, en la producció d'aminoàcids per bacteris. Això venia d'un fet circumstancial anterior, com és haver acceptat fer les determinacions de glutamat de les melasses de remolatxa francesa per a l'arbitratge en les discrepàncies entre comprador i venedor, atès que la concentració de glutamat era el que determinava el preu per tona. Cal tenir en compte que es tractava del cost de la càrrega de tot un vaixell. Utilitzava la tècnica manomètrica per mesurar la reacció de la glutamat deshidrogenasa, que era el mètode preceptiu, aprofitant-me de tenir un equip instrumental molt bo i experiència adquirida en el seu ús en treballs anteriors. Més tard, vingué el *boom* del glutamat japonès de fermentació pel *Micrococcus glutamicus*, que acabaria amb les melasses i amb les meves determinacions de glutamat. Tot aquest tràfec em portà a interessar-me en la prospecció de bacteris excretores de glutamat, fent servir de cercador una mutant auxotròfica de *Leuconos-*

toc mesenteroides. Així s'obtingué una soca de *Klebsiella pneumoniae* productora de glutamat, les poblacions de la qual, no obstant això, estaven constituïdes per una barreja de cèl·lules excretores i no excretores. En poblacions molt petites hi havia una fluctuació important del nombre d'individus d'un i altre tipus. En poblacions grans, en canvi, hi havia una proporció estable dels dos fenotips. Aquest fenomen centraria la meua atenció i la de molts dels meus col·laboradors durant anys, i fou en aquest context que s'escrigué el discurs de Sant Albert de fa quaranta anys.

En cada època sembla talment com si estiguessin prescrites els problemes que cal estudiar i els tipus de resultats que podran ser acceptats. És arriscat apartar-se'n massa, tant d'uns com dels altres, encara que de vegades val la pena de fer-ho. Això també contribueix que molts treballs, com el mateix a què ens estem referint de l'excreció de glutamat per *Klebsiella*, siguin propis del temps en què es feren, quan el model bacterià era el paradigma de les recerques genètiques i bioquímiques. Encara que siguin correctes, la majoria dels treballs passen i més tard caldria fer altres plantejaments d'un mateix problema i donar noves respostes, sense que això pressuposi arribar a res que es contradigui entre l'antic i el nou. És veritat que també hi ha treballs extraordinaris que queden vigents molt temps, tant de forma com de contingut, però no són gaires, i no sempre se'ls pot reconèixer per endavant. Sovint, en canvi, quan es tracta de treballs correctes, n'hi ha que tenen missatges críptics que, un cop desxifrats, poden ser importants, tot i no haver estat previstos per endavant pels mateixos autors. Així, el mateix fenomen de la fluctuació de l'expressió genètica en les poblacions petites, referit en el cas de l'excreció de glutamat, el tornàrem a trobar deu anys més tard, sense buscar-ho, en l'expressió del cos R en les partícules *kappa* de *Paramaecium aurelia* i també en els d'un bacteri lliure oxidant de l'hidrogen, i una altra vegada, al final de la dècada dels setanta, aquesta buscant-ho en la capacitat de creixement autotròfic, heterotròfic i mixotròfic d'un bacteri de l'hidrogen. La conclusió, no prevista en els dos primers treballs, és que la descendència clonal dels procarions està constituïda per una barreja de cèl·lules d'un nombre indefinit de fenotips possibles diferents, que es poden posar de manifest sempre que el medi de cultiu no tingui caràcter selectiu. Es tracta d'una capacitat de diferenciació reversible i determinada genèticament. Cada cèl·lula en particular té un sol tipus de fenotip i en la seva descendència n'apareixen d'altres, la freqüència dels quals és fluctuant en poblacions petites. El caràcter mixt de la població gran és el d'una barreja estable dels individus de cada fisiologia que no han estat seleccionats pel medi de cultiu.

1.4. Resistència als antibiòtics i virulència dels patògens

Un dia, el Dr. Josep Pascual Vila, un gran professor d'aquesta universitat de la generació anterior a la meua, arribant a la jubilació, em deia que arribava l'hora de deixar la recerca experimental i de renunciar a allò que es diu "estar al dia", fins

i tot en el mateix camp de l'especialitat. Va afegir que convé reflexionar sobre la pròpia experiència adquirida amb els anys, vigilant allò que encara és vigent i que pot ser útil per al que fan altres. Ah! I una altra cosa: vigilar la vitalitat de les arrels del nostre coneixement, molt sovint debilitades o seques com a conseqüència de la mateixa especialització mantinguda molt de temps.

Potser seguint aquest consell, ara voldria continuar amb algunes altres reflexions sobre la carrera científica basades en la pròpia experiència de més de mig segle.

A l'època en què començava a fer bacteriologia era corrent un tipus de recerca que avui sembla que no interessa ningú. Sorprenentment, potser per això mateix, s'hi poden trobar alguns problemes que quedaren pendents de forma més o menys explícita i dels quals ningú no s'ha preocupat més.

A la dècada dels cinquanta sorgí el problema alarmant de l'aparició cada cop més gran de patògens que s'havien tornat resistents als antibiòtics bàsics en ús. El treball clau que ho posà de manifest es refereix a les infeccions secundàries d'hospital per *Staphylococcus aureus* coagulasa positiu, que cada any eren més freqüents respecte al nombre de malalts i que, paral·lelament, el nombre de soques resistents als antibiòtics fonamentals que llavors s'utilitzaven anava augmentant clarament amb relació al nombre total d'aïllaments realitzats en el mateix hospital. A més a més, l'increment de soques resistents era més gran com més temps feia que s'utilitzava l'antibiòtic, sobre estadístiques de set o vuit anys. Cal adonar-se, però, que es tractava d'un estudi sobre infeccions estafilocòcciques secundàries i, per tant, d'un efecte sobre poblacions dels anomenats patògens hospitalaris oportunistes. En tot cas, com a cautela sanitària, es generalitzà el control de la resistència a antibiòtics abans d'iniciar el tractament de les infeccions primàries en els malalts que ingressaven a l'hospital. Això aviat va permetre comprovar que hi havia efectivament moltes soques resistents enfront d'antibiòtics d'ús comú i eficàcia terapèutica reconeguda fins llavors. Conseqüentment, es passà a creure que l'augment de soques resistents en les infeccions primàries era un fenomen general, probablement degut a la sobreutilització indiscriminada d'antibiòtics. Tanmateix es propugnaren mesures sanitàries de control i s'estimulà la investigació de nous antibiòtics que no tinguessin resistència creuada amb els d'ús més comú que, eventualment, podrien reemplaçar-los. Els mutants resistents a la penicil·lina, a l'estreptomicina i a d'altres passaren a ser objecte d'estudi preferent i tothom ha pogut comprovar que això ha permès aportar resultats realment interessants en molts aspectes. De fet, el fenomen de la resistència i de la seva freqüència en diferents patògens ocupà molts bacteriòlegs en aquella època. Jo mateix, en els anys seixanta, vaig portar a terme un programa de treball d'aquest tipus sobre la resistència a diferents antibiòtics i quimioteràpics de les soques bacterianes responsables d'infeccions urinàries, on la freqüència de recidives i de casos refractaris era freqüent, i podia estar relacionada una cosa amb l'altra.

Independentment del fenomen de la resistència als antibiòtics i el seu increment, i aprofitant l'oportunitat que tenia de disposar d'un gran nombre d'aïllaments primaris d'origen hospitalari, em vaig interessar per fer algunes comprovacions mar-

ginals en animals d'experimentació de la virulència de diferents patògens, quasi per pura curiositat. Per exemple, se sabia, i encara es pot trobar als llibres, que el ratolí era l'hoste animal més sensible als pneumococs i que una inoculació intra-peritoneal d'1-10 pneumococs resulta letal en 24 hores. El fet és que, tractant de comprovar-ho, em sorprengué trobar unes DL/50 en 24 h que no baixaven mai de 10^4 - 10^5 bacteris per ratolí. Sempre es tractava de cultius de 24 hores, en medi líquid apropiat, d'un aïllament primari de pneumococs de malalts de pneumònia lobular clàssica. Vaig tractar d'augmentar la virulència per successius passos per ratolí, tal com estava establert, però mai no vaig aconseguir una DL/50 letal inferior a 10^3 , o sigui de 100 a 1.000 vegades més gran que la que estava descrita. No vaig poder evitar de concloure que la virulència dels pneumococs responsables de la pneumònia en l'home a Barcelona en aquella època havia disminuït. El nombre de soques aïllades fou realment gran, però vaig desistir en aquest punt.

Anys després, en el curs d'un treball sobre els patògens d'aigües residuals, hi vaig tornar a pensar en analitzar comparativament l'estadística dels coprocultius hospitalaris de la zona en el mateix període. Sorprenia la dificultat de trobar les mateixes soques patògenes i la freqüència de varietats no virulentes de les mateixes espècies. Em va venir la pregunta de per què no s'havia estudiat mai si les formes resistents als antibiòtics eren més, igual o menys virulentes que les sensibles. Com també si l'augment de resistència afectava igualment les varietats no virulentes i, simplement, si l'augment de la dosi infecciosa podia estar relacionada amb la freqüència de mutants resistents. La importància epidemiològica d'aquesta possibilitat em semblava clara, però em sorprenia no haver trobat mai res a la literatura que hi fes referència.

Les variacions de la virulència dels patògens de l'home i dels animals al llarg del temps sembla que és un fet indiscutible, però potser en són poc conegudes les causes i encara menys els processos que hi poden estar implicats, però ningú no sembla tenir gaire interès a estudiar-ho. Ben segur que un dia o altre es podrà aclarir aquest tema. És impossible deixar de banda el fet que en les epidèmies, com passa en la plaga de la llagosta, allò que és més sorprenent i que es dona sovint és que s'acabin en sec, sense saber ben bé el perquè ni haver-hi fet res. Recordem només les grans pandèmies de còlera del segle XIX que duraren anys i que s'anaven estenent d'un país a l'altre, i s'acabaven sobtadament en una de les àrees afectades o en una altra i després, successivament, de la mateixa manera en les altres.

1.5. El vell concepte de Winogradsky sobre els inorganoxidants

Ara fa quaranta anys, vèiem els bacteris molt més pròxims als organismes superiors que no pas ara, sobretot pel que fa a l'organització dels seus respectius genomes.

Com se sap, els bacteris se serveixen amb gran facilitat del material genètic d'altres bacteris. Presenten un sistema d'intercanvi de gens molt obert, que fa pensar en una evolució no lineal ni totalment irreversible, i molt més ràpida que la dels eucarionts, sense que això impedeixi que es vagin succeint diferents tipus generals d'organització al llarg del temps. Contra el vell concepte de Winogradsky, no sembla haver-hi cap tipus fisiològic totalment independent i aïllat com es creia. Un exemple senzill pot ser el que em va sorprendre en estudiar els bacteris de l'àcid acètic, que són un grup molt definit de bacils gramnegatius estrictament aerobis, però vet aquí que trobem els membres del gènere *Gluconobacter* que pot fermentar glucosa per la via d'Entner-Doudoroff, la qual només s'havia trobat en alguns bacteris anaerobis estrictes com *Zimomonas mobilis*. D'altra banda, en una subespècie d'*Acetobacter*, la glucosa pot convertir-se en acetat per l'anomenada via de les fosfoctolases, que només es coneixia en *Bifidobacterium*, també un bacteri anaerobi que no té res a veure amb els de l'àcid acètic. Tenim així un gènere i una subespècie d'un tipus fisiològic estrictament aerobi que tenen cadascun un sistema alternatiu diferent d'abastament energètic propi de dos anaerobis estrictes amb res de comú entre ells ni, no cal dir-ho, amb els bacteris de l'àcid acètic. Són una mena de quimeres, com un cavall alat i un altre amb aletes natatòries.

Es podrien donar moltíssims altres exemples, malgrat que en els darrers trenta anys s'han anat revelant nous grups fisiològics i diversificant-ne també molts dels antics. Com ja he dit, tot fa pensar que l'evolució lineal i irreversible o els arbres filogenètics no poden ser aplicats i, consegüentment, que la taxonomia dels procarions no pot tenir una interpretació històrico-natural comparable a la dels eucariotes.

1.6. El fenomen de la microheterogeneïtat molecular

L'any 1970 vaig presentar en un col·loqui algunes consideracions sobre l'asimetria molecular en la matèria viva. La presència de d-aminoàcids en diferents oligopèptids bacterians plantejava la pregunta de si una addició successiva d'aminoàcids donaria una síntesi homogènia o bé heterogènia, és a dir, si l'ordre dels aminoàcids seria constant o no. Atenent al que se sabia de la composició d'antibiòtics amb d-aminoàcids, com la gramicidina S, la tirocidina i la bacitracina, semblava que la seva síntesi era homogènia, però no es comprenia com podia tenir lloc. El 1973, tots els microbiòlegs quedaren mig bocabadats pels treballs de Park i Strominger, que eren d'aquests que només es poden fer en estat de gràcia. La biosíntesi de la mureïna quedà perfectament desglossada pas a pas des d'un intermediari normal, al qual s'uneix un polipèptid de longitud variable d'entre 1-5 aminoàcids. Després ve una addició d'l-alanina, seguida d'una altra de d-glutamat, després l-lisina i a continuació un dipèptid de d-alanina per formar l'únic compost que pot unir-se a la paret cel·lular. Aquesta darrera unió és la que selecciona específicament la mureïna d'entre

les diferents molècules que també es van formant, però que queden reduïdes a una petita concentració en equilibri. Aquesta microheterogeneïtat molecular podria ser l'origen tant de la diversificació de l'oligopèptid de la mureïna entre diferents bacteris com de la síntesi d'antibiòtics peptídics amb d-aminoàcids. L'oligopèptid de la mureïna dels estafilococs va constituir el primer cas de biosíntesi d'un polipèptid sense ribosoma ni mRNA. La biosíntesi heterogènia es va comprovar després en els àcids tecoics dels grampositius i el lipopolisacàrid dels gramnegatius. Cap als anys noranta, la dels àcids lipotecoics i dels lipoglucans dels bacteris grampositius. És quan justament vaig tenir ocasió de comprovar directament l'estructura dels lipoglucans de *Bifidobacterium* determinada per W. Fischer. Aquí tenim també d-alanina, èsters fosfòrics de glicerina i heteròsids com en els àcids tecoics. La d-alanina inicial i final de la molècula varia en proporcions del 20 al 50 %. Hi ha branques monomèriques de glicerofosfat repartides a l'atzar i una acilació addicional variable. A part de les diferències entre soques i espècies, trobem en cada tipus cultural una o unes quantes famílies de glicoformes emparentades. La freqüència de cada molècula pot ser modulada durant el creixement i per les condicions culturals.

Sabem que hi ha molts estudis de síntesis d'RNA *in vitro* i també de la variabilitat d'alguns virus d'RNA que han posat de manifest processos de síntesis heterogènies. Això ha fet pensar que l'autoduplicació fiable del DNA potser s'hauria derivat d'una autoduplicació heterogènia primària per arribar a ser el que és ara i, a més a més, a ser també la base de moltes altres biosíntesis específiques, estables i homogènies. El que no està clar és com s'han originat i mantingut al mateix temps un determinat tipus de biosíntesis heterogènies, molt comunes en els bacteris. És un tema que fins ara potser no ha rebut tota l'atenció que es mereix, menys encara de la meua part que, havent-me encarrilat molt bé per seguir-lo, guiats pel mateix Fischer, no vaig saber trobar la forma de fer-ho.

1.7. Els eucariotes unicel·lulars

Sovint els microbiòlegs s'han interessat, abans potser més que ara, pels microorganismes eucariotes, llevats i fongs filamentosos, protozous i algues microscòpiques. Hi ha raons metodològiques que per si soles ho poden justificar en molts casos, però també hi pesa una mena de fascinació per algunes de les propietats que presenten per la seva semblança amb les dels bacteris. Col·loquialment se sol dir que els eucariotes microscòpics, unicel·lulars i multicel·lulars, sempre *procariotegen* en una o altra propietat.

Potser només pel que porto dit en aquesta exposició, es pot donar per suposat que jo mateix puc incloure'm dins d'aquest tipus de microbiòlegs. Efectivament és així i per aquest motiu voldria encara referir-me a uns treballs publicats fa uns quinze anys amb alguns dels meus col·laboradors, sobre la utilització de la llum per

a l'assimilació de matèria orgànica per *Chlorella*, com sabeu, una alga unicel·lular molt coneguda i que es troba per tot arreu.

En aquest cas es tracta d'una soca aïllada sorprenentment de plaques d'agar tripticàsic de soja en un control rutinari de bacteris heterotròfics en l'abocament al mar de les aigües residuals d'un col·lector. Evidentment, unes colònies verdes desenvolupades en un medi orgànic i a les fosques entremig de colònies bacterianes sempre criden l'atenció.

En els anys setanta i vuitanta s'havien publicat molts treballs sobre el creixement mixotròfic de *Chlorella* i altres algues unicel·lulars, tant marines com d'aigua dolça. En el nostre cas, *Chlorella* creixia autotròficament en un medi mineral amb la llum i, a les fosques, també creixia en medi orgànic o bé en el mateix medi mineral si s'hi afegia només glucosa. Llavors, en presència de llum, el creixement total era molt més gran que la suma del creixement autotròfic i heterotròfic, mesurats independentment. L'anàlisi del balanç energètic mostrà que, en el creixement mixotròfic, només s'utilitza la llum per assimilar glucosa. El creixement degut a la prima de glucosa utilitzada és sis vegades més gran que el creixement autotròfic independent. La mixotròfia suposa doncs una optimització del rendiment energètic, tot i que, com es va poder comprovar, la glucosa inhibeix la fixació autotròfica de CO_2 i la llum també inhibeix parcialment la respiració de la glucosa, però no la seva assimilació. Es van estudiar molts altres aspectes d'interès, com és ara el de substrats orgànics diferents de la glucosa, el comportament de mutants amb bloqueig de la fotosíntesi, els canvis del sistema pigmentari, la fixació de CO_2 i la respiració a flux constant amb cèl·lules fixades, i altres coses. Malgrat això, el que jo ara volia consignar és que, mirat aquest treball avui, no puc deixar de reconèixer que va plantejar moltíssims problemes interessants que no vam estudiar. Teníem a les mans un model molt treballat i un equip instrumental disponible molt complet per poder continuar endavant, i aprendre molt més d'un tema tan atractiu com és la interacció metabòlica de dos sistemes independents dintre la mateixa cèl·lula, els mitocondris i els cloroplasts, a diferència del que passa en la mixotròfia bacteriana. No sé si devia influir-hi el fet que es tractés d'un tipus de treball amb experiments molt llargs i delicats que no es poden delegar en ningú i que, per tirar-ho endavant, no es pot fer res més. El tema s'abandonà i, entre altres coses, em vénen a la memòria moltes de les preguntes que van quedar obertes. Per exemple: la serina no és utilitzada heterotròficament per la *Chlorella*, però en canvi sí que ho és, i molt activament, en presència de llum i amb un creixement simultani autotròfic. L'assimilació fotoquímica de la serina permet un creixement total molt més gran que el que s'assoleix autotròficament en el medi mineral. Seria bo haver analitzat aquest sistema en profunditat.

És possible que, en el cas referit, la nostra negligència tampoc no fos tan important de cara al progrés del coneixement científic, però hi ha hagut casos de negligència que sí que ho han pogut ser. Un dels més citats és el de Nägeli, un gran botànic alemany de mitjan segle XIX, professor de la Universitat de Berlín, que no va trobar mai el temps per comprovar la puresa de les llavors de l'híbrid de pèsol

que li va donar Mendel, després que li demanés ell mateix, perquè no es creia que una part de la descendència d'un híbrid fos una raça pura. És possible que tot el desenvolupament de la genètica es retardés seixanta anys per aquest motiu.

1.8. El comiat acadèmic de Lord Kelvin

Tots hem sentit parlar de William Thompson, Lord Kelvin. És un dels físics més notables del segle XIX, i la seva carrera científica és un seguit d'èxits molt brillants. A l'edat de 72 anys, en ocasió de la seva jubilació com a professor de física després de cinquanta anys d'exercici, va deixar parat l'auditori en afirmar que la millor paraula per qualificar la seva carrera científica al llarg de més de mig segle era la de *fracàs*. S'ha comentat molt aquest discurs de comiat de Lord Kelvin, i sembla ser que el primer que volia dir era que se n'anava més ple de dubtes i de preguntes sense resposta que no pas tenia quan va donar la primera classe de física, que veia moltes coses de les que havia fet insuficients i maldestres i que no tenia temps de posar-hi remei, que a mesura que anaven passant els anys havia anat augmentant la consciència de les pròpies limitacions i que, moltes vegades, intentar respondre correctament una pregunta no li havia servit més que per fer-se'n cent de noves. No obstant això, no sé si amb orgull o amb pena, va observar que no coneixia res que hagués pogut fer amb més entusiasme i interès del que havia sentit fent allò que havia fet.

Efectivament, hi ha molt pocs científics que es puguin comparar amb Lord Kelvin, però la seva reflexió sobre la pròpia carrera científica és aplicable, si no a tots, a molts d'altres. Per això crec que és el millor missatge que puc donar en aquesta nova promoció de biòlegs en les diferents especialitats, que avui he tingut la satisfacció d'apadrinar en el dia de Sant Albert Magne.

1.9. Un problema de geometria

Voldria acabar reclamant la vostra atenció cap a una altra reflexió sobre una experiència personal molt recent, certament una mica xocant. M'agradaria que ho trobéssiu adient després de tot el que us he exposat.

He dit que entre els papers guardats des de qui sap quan he retrobat el text de la conferència del dia de Sant Albert de fa quaranta anys. Mentre la buscava, naturalment, em van anar sortint altres coses i, algunes, encara més antigues. Entre elles, un plec de fulls de fa uns seixanta anys, de poc després de la Segona Guerra Mundial, amb un problema de geometria. L'anunciat es troba en un retall separat que em va donar algú que no recordo gota. Essencialment demana que si tenim una circumferència de centre O i tres punts interiors A, B, i C, com ens ho podem fer per

trobar un punt P de la circumferència des d'on els traços als punts A i C formin un angle del qual el traç al punt B en sigui la bisectriu?

Sembla inofensiu, no? Doncs no ho és gens ni mica. Els altres papers del plec eren esborranys de diferents intents de trobar-ne la solució. De fet, vaig quedar-hi enganxat, com en un sudoku rebel, sense poder-ho deixar ni un moment en una colla de dies, de dies i de nits. Finalment, però, vaig tenir la sort d'assolir la demostració general absoluta, que és allò que realment demanava l'enunciat, és a dir, la demostració del teorema que es pot aplicar en qualsevol cas per resoldre el problema.

No tinc pas intenció d'exposar ara aquesta demostració. Indiscutiblement no tindria sentit, però voldria apuntar les fases del procés seguit, perquè crec que és interessant fer-se'n càrrec i així poder justificar millor la reflexió que se'n deriva. Ben entès que m'ho vaig prendre com un repte personal i no podia preguntar res a ningú. Vaig començar, doncs, per un atent estudi dels esborranys i a treure la pols de tota la geometria que tenia a l'abast, per trobar aquest problema o el teorema aplicable. Amb això aconseguí resoldre dos casos particulars: quan els punts A , B i C estan en línia recta, i quan els segments AB i BC són iguals. Però del cas general, res. Després vingué la il·luminació: adonar-me que podia prescindir de la circumferència i tractar de trobar el lloc geomètric de tots els punts des dels quals els segments AB i BC es veiessin amb el mateix angle. Evidentment, les interseccions d'una circumferència qualsevol de centre O donaria la solució que es demana. Després, molt de mica en mica, vaig veure que el lloc geomètric estava determinat per les interseccions dels arcs capaços dels segments AB i BC , traçats amb dues circumferències de centre en la vertical del punt mig de cada segment i de radi respectiu en la mateixa proporció de les longituds de cada segment. Finalment, unint un nombre suficient d'aquests punts, construïts amb regla i compàs, no amb l'ordinador, vaig obtenir una corba que més tard comprovaria que es tractava d'una corba cúbica que se'n diu estrofoide. Les interseccions d'aquesta corba amb qualsevol circumferència donada de centre O i tres punts interiors A , B i C , també donats, donen la solució del problema en tots els casos possibles.

Uf! Quin descans. Però aquesta fixació de tants dies em va produir una estranya sensació: que els seixanta anys que havien passat des que em donaren el problema no existien. Que entremig no hi havia res. Després també em vaig adonar que la demostració assolida era veritat avui com ho seria d'aquí a mil anys, com passa amb totes les demostracions absolutes de les matemàtiques.

Bé. L'anècdota es justifica per poder-vos dir que la ciència és una altra cosa. Un o mil experiments ben fets donaran sempre el mateix, però no ens poden portar mai a un teorema, sinó tan sols a una conjectura, com a premi per a un parent pobre que, això sí, si és bona, pot arribar a ser molt fiable i útil, per tant amb un valor adaptatiu per a l'home. Els teoremes poden tenir també aplicacions pràctiques, efectivament, però en si mateixos són una altra cosa. Potser per això, la demostració que havia assolit de forma tan ocasional em donà una sensació estranyament inefable.

No hi estava prou avesat, ni hi estic encara, probablement a causa del mateix caràcter experimental de la major part de la meua pròpia carrera científica.

Gràcies per la vostra atenció.