
NOTAS DE HISTORIA PROTOZOOLÓGICA V. EL RENACIMIENTO DE LA PROTOZOLOGÍA SIETE FECUNDOS LUSTROS: 1941-1976

ENRIQUE BELTRÁN**

Instituto Mexicano de Recursos
Naturales Renovables.

Publicado originalmente en: *An. Soc.
Mex. Hist. Cienc. y Tec., No. 5:*
91-114.1979. Presentado en el III
Simposio Internacional de
Protozoología. México, 1976.

Después de la excelente visión panorámica que el Dr. López Ochoterena presentó sobre los orígenes y desarrollo de la protozoología en los tres siglos transcurridos desde los estudios iniciales de Leeuwenhoek, parece ocioso reservar, para una exposición separada periodo tan corto como el que cubre esta contribución.

Sin embargo, lo justifican los notorios avances realizados, con nuevos enfoques de viejos problemas, y planteamientos de otros nuevos, atacados con un arsenal tecnológico altamente perfeccionado, con los objetivos de interferencia y de contraste de fase y los sistemas de iluminación estroboscópica en fotomicrografía, así como el microscopio y los ultra micrótomos para preparar los delgadísimos cortes requeridos por dicho instrumento, que permiten realizar observaciones de un alcance y finura antes insospechados.

Además, los adelantos en química, especialmente resaltando el papel del DNA y el RNA en los procesos genéticos, y permitiendo realizar con relativa facilidad cultivos axénicos en medios sintéticos, han iluminado muchos procesos biológicos en los protozoarios. A la vez investigaciones ecológicas de gran precisión, tanto en las formas de vida libre como en las parásitas.

Estableciendo la razón que existe para exportar con mayor amplitud y especificidad los avances "recientes" en protozoología, queda aún por justificar la reducción de los mismos a un periodo preciso de treinta y cinco años.

Parecerá que la limitación del mismo tiene carácter de proyección al pasado, iniciando la cuenta reversible en 1976 para detenerla en 1941, y logrando así un periodo precisamente limitado, para usar unidades decimales fáciles de apreciar, como son los lustros.

En realidad, la dirección seguida es la inversa: tomé como punto de partida 1941 por parecerme un año de gran significación en la historia de la protozoología. Y es sólo coincidencia que en el año en curso se cumplan precisamente 35 años, sin que hubiera tenido en mente dicho propósito al seleccionar el tema de esta intervención.

El Prof. López Ochoterena nos hizo una reseña, naturalmente condensada por el largo periodo que cubre, pero no por ello menos precisa, tomando como punto de partida el año de 1676 fecha de la famosa "Carta 18" de Leeuwenhoek, que es sin duda la más importante de las escritas por el genial micrófago holandés acerca de los protozoarios. Aunque personalmente estimo que el "Acta de nacimiento" de estos organismos es dos años anterior, considerando como tal la "Carta No. 6" del 7 de septiembre de 1674, publicada ese mismo año.

Estimo de especial significación, para iniciar un "renacimiento" de la protozoología 1941, porque en dicho año se publicó una obra² que contribuyó grandemente a impulsar el interés al respecto; opinión que comparten muchos distinguidos protozoólogos de diversos países, con quienes he tenido oportunidad de comentar el asunto.

La génesis de esta valiosa contribución la exponía mi querido maestro, el Prof. G. N. Calkins, de Columbia University, en una larga carta fechada el 24 de agosto de 1937, que en su segunda hoja incluía el párrafo siguiente que, por su importancia histórica y estar escrito por una de las primeras autoridades mundiales en el ramo traduzco completo. Dice así:

"Algunos de nosotros sentimos que el tema de la protozoología se está quedando atrás, por lo que estamos pensando en un nuevo volumen, que muestre lo que se ha hecho, lo que se está haciendo actualmente, y cuales son los problemas para futuros trabajos. Cada uno de aproximadamente veinte especialistas, escribirá sobre el

tema de su mayor interés, y de esta manera se cubrirá todo el campo de la protozoología. Algunos de los que tomaran parte son: Cleveland, Mast, Woodruff, Wenrich, Kidder, Summers, Jennings, Kirby, Noland, Tyzzer, Taliaferro, C. V. Taylor, MacLennan, Turner, Sonneborn, Jahn, Richards, Kofoid, Howland, etc. Requerirá dos o tres años de trabajo, pero será autoritativo cuando se complete".

De acuerdo con la proyección de Calkins, el libro proyectado, apareció en 1941 y para su edición contó con la ayuda de Francis M. Summers, que había sido compañero mío en su curso de Protozoología Superior en Columbia (1932-33) -por entonces instructor en el College of City of N. York- quien tomó su Ph. D. en protozoología con Calkins, pero derivó a la entomología agrícola, ligándose con la Universidad de California en Berkeley.

Cinco de los posible colaboradores que mencionaba en su carta, por una u otra causa no participaron: Cleveland, Wenrich, Noland, Tyzzer y Howland; pero en cambio se agregaron cinco igualmente distinguidos: Beams, King, Weatherby, Hall y Becker.

Protozoa in Biological Research, consta de veinte capítulos que a continuación se citan, con los autores correspondientes: 1) General consideration, G.N. Calkins; 2) Some physical properties of the protoplasm of the protozoa, H. W. Beams y R. L. King; 3) Cytoplasmic inclusions, R. F. MacLennan; 4) Fibrillar systems in Ciliates, C. V. Taylor; 5) Motor response in cellular animals, S. A. Mast; 6) Respiratory metabolism, T. L. Jahn; 7) The contractile vacuola, J. H. Weatherby; 8) The technique and significance control in protozoan culture, G. W. Kidder; 9) Food requirements and others factors influencing growth of protozoa in pure cultures; 10) The growth of the protozoa, O. W. Richards; 11) The life cycle of the protozoa, C. A. Kofoid; 12) Fertilization in protozoa, J. P. Turner; 13) Endomixis, L. L. Woodruff; 14) Sexuality in unicellular organisms, T. M. Sonneborn; 15) Inheritance in protozoa, H. S. Jennings; 16) The protozoa in connection with morphogenetic problems. F. M. Summers; 17) Certain aspects of pathogenicity of protozoa, E. K. Becker; 18) The immunology of parasitic protozoa, W. H. Taliaferro; 19) Relationship between certain protozoa and other animals, H. Kirby Jr.; y 20) Organisms living on and in protozoa, H. Kirby Jr.

El profesor Calkins no pudo seguir el impacto que tuvo su contribución pues falleció dos años después de publicada la obra (4 de enero de 1943), coronación de una larga y fecunda trayectoria en el campo de la protozoología, de la que deje constancia en unos apuntes bibliográficos de tan brillante maestro y destacado investigador.⁴

Después de los balbucesos de la protozoología en el último tercio del siglo XVIII, el XIX la dejó claramente establecida. Antes de terminar la primera mitad -además de muchas otras contribuciones monográficas- Ehrenberg (1838)⁵ y Dujardin (1841)⁶ dejaron sólidamente sentadas sus bases, completadas después con aportaciones generales de autores importantes, como las contenidas en los textos de Claparède y Lachmann (1858)⁷ Stein (1867),⁸ Fromentel (1874),⁹ Kent (1880)¹⁰, etc.

Al mismo tiempo que durante el siglo XIX se fueron sentando las bases teóricas de la protozoología, como una ciencia debidamente estructurada, se desarrollaron también los instrumentos, técnicas y reactivos que todavía usamos en la actualidad; microscopios mecánicamente perfeccionados con ópticas acromáticas y apocromáticas, aparatos de dibujo y fotografía, condensadores de fondo oscuro, microtomos para cortes en serie; igualmente fijadores efectivos a base de ácido ósmico, cromo, ácido pícrico, bicloruro de mercurio, etc., y todo un conjunto de colorantes como el carmín, la hematoxilina y las diversas anilinas. Junto con métodos de cultivo apropiados a diversas especies.

Al término de la centuria, quedaba ya estructurada la protozoología moderna, gracias, principalmente, a las aportaciones de Otto Bütschli coronadas con la publicación de su magnífica obra *Protozoa*¹¹ en tres volúmenes, que aparece entre 1880 y 1889 dentro de la monumental *Zoología General*, dirigida por H. G. Bronn; en reconocimiento de ello Dobell (1951)¹² en una nota biográfica lo califica como "arquitecto de la protozoología". Y Goldschmith (1956)¹³ que trabajó a su lado, recordando a todas las brillantes personalidades que tuvo la fortuna de conocer escribía que, de todas ellas, "...sólo Bütschli me impresionó -igual que a todos sus discípulos- como un verdadero genio..."

Al mismo tiempo que Bütschli completaba su monumental contribución, Entz (1888)¹⁴ publicaba la única historia en húngaro en las primeras 211 páginas y su traducción alemana en las 244 restantes- donde muestra el estado del conocimiento de los protozoarios hasta entonces.

* * *

El siglo XX no podía comenzar bajo mejores auspicios, pues dos jóvenes protozoólogos: un americano de 32 años, G. N. Calkins, y un alemán de 28, F. Doflein, publicaron sendos libros de excelente calidad.

El primero lo dedicó a los protozoarios en general y lo intituló *The Protozoa*,¹⁶ publicando ocho años después otra obra semejante notoriamente ampliada, con el título de *Protozoology* (1909)¹⁷. El segundo se ocupó sólo de los protozoarios parásitos, y así lo expresa el título de su obra *Die Protozoen als Parasiten und krankheitserreger*,¹⁸ y por curiosa coincidencia, el mismo año que Calkins daba a luz su segunda obra, Doflein publicó el *Lehrbuch der Protozoologie* (1909)¹⁹ que, a pesar de su nuevo nombre que corresponde al contenido, consideraba segunda edición de la anterior.

Para completar la nutrida contribución de ese memorable año de 1909, hay que mencionar los dos volúmenes que Hickson, S. L., *et al.* dedicaron a los protozoarios en la *Zoología de Ray Lankester*²⁰ y el extenso capítulo de M. Hartog en *The Cambridge Natural History*.²¹

Otro importantísimo acontecimiento de esa primera década, es la aparición de la revista *Archiv für Protistenkunde* que fundó F. Shaudinn en 1902, y que en 1975 completo su volumen 116.

La segunda década es indudablemente menos importante que la anterior, pues en ella sólo aparece una nueva protozoología general de E. A. Minchin (1912),²² y un excelente libro de Dobell, que es de sinigual importancia en su campo, pero de carácter monográfico, pues está dedicado a las amibas parásitas del hombre.²³ Doflein contribuye con dos nuevas ediciones de su *Lehrbuch* en 1911 y 1916.

En la década de 1921-30 aparecen tres nuevos textos generales de protozoología, por E. Fernández Galiano (1921),²⁴ C.M. Wenyon (1926)²⁵ y G. N. Calkins (1920)²⁶ Hay también tres contribuciones valiosas pero que sólo se refieren a protozoarios parásitos del hombre: de R. Hegner y W. Taliaferro (1924),²⁷ C.F. Craig (1926)²⁸ y Thompson y Robertson (1929).²⁹ Especial mención merece un libro editado por Hegner y Andrews (1924)³⁰ en que 26 autores contribuyen a precisar problemas y métodos de investigación en protozoarios parásitos. Igualmente la importante monografía de Belar (1926),³¹ sobre el núcleo de los protistas.

Si los cuatro lustros transcurridos entre 1911 y 1930 a pesar de sus valiosas contribuciones, no pueden compararse con la primera década, es evidente que la siguiente todavía decrece más, pues sólo dos autores publican en ella libros originales de protozoología; R.R. Kudo (1931, con una segunda edición en 1939),³³ y G. N. Calkins en 1933 con una segunda edición de su *Biology of Protozoa*, aparecida en 1926. Además, de 1930 a 1935 se publica de clásica obra de Kahl (1930-35)³⁵ sobre ciliados, y la monografía de Kalmus (1931)³⁴ referente a *Paramecium*.

Al terminar la década de 1931-40 ya se tenía una idea general de los protozoarios semejante a la actual; y el conocimiento de las principales formas parásitas del hombre y los animales domésticos estaba muy adelantado. Igualmente, después de las contribuciones pioneras de Maupas en el siglo XIX, investigadores como Calkins, Woodruff, Enríques, Sonneborn, Jennings y otros habían contribuido al estudio de la reproducción, la sexualidad y la herencia. Se había adelantado bastante en la investigación de los requerimientos y los procesos alimenticios de los protozoarios, especialmente con las contribuciones de Hall, Jahn, Elliot, Richards, etc.; y los trabajos de Sandon con respecto a los que viven en el suelo, y los de Lackey en relación con los de las aguas negras, habían centrado la atención en aspectos ecológicos. Pero no se notaba en la protozoología el vigor que caracterizaba otros campos de investigación biológica.

No existía ninguna agrupación de índole específicamente protozoológica, aunque hubo una de corta vida en Rusia, en la década de los veinte, que inclusive logró publicar una revista: *Archives Russes de Protistologie*, de la que sólo aparecieron cuatro volúmenes. *Les Annales de Protistologie*, editados por Deflandre no tuvieron mejor

suerte pues únicamente se publicaron 5 volúmenes (1928-1932). Y nunca se había celebrado una reunión internacional de protozoología.

Parecía pues justificada la pesimista visión de Calkins, unida a su optimismo y entusiasmo de contribuir a mejorar el panorama, poniendo al día los conocimientos en los diversos campos de la protozoología, lo que en gran parte consiguió con la publicación de 1941, en la que logró la colaboración de los más brillantes protozoólogos de entonces.

* * *

La aparición de *Protozoa in biological research* constituyó un indudable estímulo, pero la natural lentitud en que se van difundiendo las nuevas publicaciones, y el tiempo que transcurre antes de que aquellos a quienes estimularon den a luz obras de significación, explican que los primeros años de la década no registraron la aparición de otra obra general que el libro de Jahn y Jahn, *How to know the protozoa*, publicado en 1949. En México también Beltrán da a luz en 1948 el libro *Los Protozoarios parásitos del hombre*,³⁶ de tema médico pero con enfoque especialmente protozoológico. Y al año siguiente aparece el magnífico libro de protozoología médica por Hoare (1949)³⁷ y de otro de la misma índole de Neveu Lemaire (1943).^{37a}

Quizá lo más importante de esa década es que en 1947 se establece en los Estados Unidos -con membrecía internacional- la *Society of Protozoologists* que ejercerá vigorosa influencia para promover el interés en la protozoología.

A partir de la década siguiente (1951-60) no sólo se publican obras generales de importancia como las de Dogiel (1951)³⁸ Grasse (1952),³⁹ Jirovec (1952),⁴⁰ Hall (1953),⁴¹ Grell (1953)⁴² y la dedicada a los sarcodarios por Jepps (1956).⁴³ También comienza a publicarse una valiosa revisión de la bioquímica y fisiología de los protozoarios en tres volúmenes, que editan Lwoff y Huntner (1951-64).⁴⁴ A los anteriores se unen bien documentados monografías sobre diversos géneros -y en ocasiones una sola especie- como las de Witcherman (1953)⁴⁵ y Beale (1954),⁴⁶ en *Paramecium*; y de Gojdics (1953)⁴⁷ en *Euglena*.

La década 1961-70 es de una importancia que difícilmente se equipara con otra anterior, aunque en cierto modo puede compararse a la primera del siglo XX en la que se publicaron cuatro tratados generales de protozoología, y se inició la primera revista especializada, que 74 años después de fundada aún continúa vigorosa. Aparecen en dos lustros a que se refiere este párrafo tres importantes obras generales por Mackinnon y Hawes (1961),⁴⁸ Maxwell (1961)⁴⁹ y Lepsi (1965)⁵⁰ esta última en idioma rumano. También se publica, arreglada por Polhanskij y Cheissin (1965),⁵¹ la traducción al inglés de la obra de Dogiel, aparecida en 1951, pero que tuvo escasa difusión en los países occidentales por estar escrita en ruso. En 1961⁵² Corliss publica su excelente libro sobre los ciliados; y otros autores monografías genéricas o específicas sobre *Paramecium* (Jurad y Selman, 1969),⁵³ *Stentor* (Tartar, 1961),⁵⁴ (Buetow, 1968).⁵⁵ Igualmente el tomo I *Protozoa* (1967),⁵⁶ editado por G. Kidder en la serie *Chemical Zoology*, Florin y Scheer, eds. Por su parte, Pitelka publicó en 1963, una recopilación de lo hasta entonces conocido en relación con ultra estructura de los protozoarios. De sin igual interés fue el comienzo de la publicación en 1967 del primer volumen de *Research in Protozoology* editada por Chen y cuyo cuarto y último volumen apareció en 1972⁵⁸ de índole semejante a la obra de Calkins y Summers, por lo que ofrece un excelente punto de comparación de los cambios en la manera de enfocar el panorama protozoológico a un cuarto de siglo de distancia. Dos acontecimientos de gran significación se registran entre 1961 y 1970; la aparición de nuevas revistas y la iniciación de Congresos Internacionales de Protozoología. Las dos revistas que inician su publicación son *Acta Protozoológica*, en Polonia, en 1963 (12 volúmenes completos en 1975) y *Protistológica* en Francia, en 1965 con 11 volúmenes hasta 1975. En cuanto a los Congresos Internacionales, el primero se reunió en Praga (1961), segundo en Londres (1965), tercero en Leningrado (1969), cuarto en Clermont-Ferrand (1973), y quinto deberá celebrarse en New York en 1977. En México se lleva a cabo en 1969 el I Simposio Internacional Sobre Amibiasis, organizado por Bernardo Sepúlveda, al que siguió el II en 1970, y han continuado con toda regularidad hasta la fecha.

Si la década 1961-1970 que acabamos de reseñar tuvo gran significación, la que estamos viviendo se ha desarrollado también vigorosamente. En 1973 aparece un nuevo texto general de excelente calidad escrito por Sleight, y el mismo año la versión inglesa de la *Protozoologie* (2a. ed. 1968) de Grell⁶⁰, que aunque sigue de cerca

el texto alemán tiene muchas adiciones y modificaciones, por lo que no se presenta como tercera edición traducida sino independientemente.

Contribuciones monográficas importantes son la de Hill (1972)⁶¹ y Elliot (1973)⁶² en *Tetrahymena*; Giese (1973)⁶³ en *Blepharisma*; Jeon et al. (1973)⁶⁴ en *Amoeba*.

El IV Congreso Internacional de Clermont-Ferrand (1973), hábilmente manejado por de Puytorac y Grain, tiene la novedad de publicar -además del volumen habitual de la serie *Progress in Protozoology* con resúmenes de los trabajos- el material presentado en 26 Mesas Redondas, constituyendo un tomo adicional con el título *Actualités Protozoologiques I*, como anticipo de que se repita dicha publicación en otros congresos. Por su parte el XVIII Congreso Internacional de Zoología, que se llevó a cabo en Montecarlo en 1972, dedicó uno de los siete temas en que se dividió al "Papel de los Protozoarios en algunos problemas ecológicos". En México se reunieron los Simposios Internacionales sobre Amibiasis: III-1971; IV-1972, V-1973, VI-1974 y la Conferencia Internacional sobre Amibiasis (1975) todos organizados por Bernardo Sepúlveda. En 1974, por iniciativa de Eucario López Ochoterena, de la Facultad de Ciencias de la UNAM, y con el apoyo de Juan Luis Cifuentes, Director de la misma, se reunió en 1974 el I Simposio Internacional de Protozoología, que dado el éxito alcanzado se repitió en 1975 (II) y 1976 (III); estas interesantes reuniones han propiciado la visita a México de figuras internacionales tan destacadas como K. G. Grell, de Alemania; P. de Puytorac, J. Grain, C. Groliere, y L. Joyon, de Francia; D. Fernández Galiano de España; J. C. Corliss, W. Balamuth, E. B. Small, y J. Cairns, de los Estados Unidos; y E. Willaert, de Bélgica.

Terminaré esta primera parte de índole cronológica, con la mención de una reunión que se efectuó en Boston en julio de 1975, en la que se propuso la formación de una Sociedad de Protistología Evolucionista, planeándose otra reunión para 1977 en la Universidad York, de Toronto Canadá, en que se espera dejarla constituida, pues se cuenta ya con interés para el proyecto manifestado por 77 personas: 57 norteamericanos, 7 canadienses, 6 ingleses, y el resto de Alemania Federal, Unión Soviética, Francia, Holanda, Dinamarca y Noruega.

* * *

Para darse cuenta de cómo evolucionó la protozoología en los 26 años transcurridos entre la aparición de *Protozoa in Biological Research* (1941) y *Research in Protozoology* (1967), pueden compararse ambas producciones que, curiosa coincidencia, ambas tiene 20 capítulos; pero mientras en la primera los veinte autores son norteamericanos, la segunda tiene carácter internacional, pues entre los 25 participantes, hay dos del Reino Unido, uno de la Unión Soviética, uno de Alemania Occidental y otro de Dinamarca. Sólo dos de los autores de 1941 participaron en 1967: T. L. Jahn con dos diferentes temas, pues en el primero desarrolló el capítulo "Respiratory metabolism" y en el segundo con la colaboración de E. C. Bovee, tuvo a su cargo el de "Motile behavior in protozoa", que en el anterior había cubierto S. O. Mast: "Motor response in celular organisms"; y R. P. Hall que en ambos cubrió el mismo campo: la nutrición.

Varios capítulos tuvieron correspondencia en ambas obras, por ejemplo el referente a inclusiones y organoides (MacLennan, 1941 y Anderson, 1967), pero de inmediato se nota la diferencia, ya que muchas de las estructuras que en el primero sólo se apreciaban por su forma externa y sus afinidades tintóreas (mitocondrias, complejo de Golgi, cinetosplasto, etc.) muestran claramente en el segundo complejas estructuras internas; las membranas que se consideraban homogéneas se resuelven en varias láminas; aparecen también complejos sistemas tubulares en el citoplasma. No queda pues duda de que el adelanto morfológico ha sido sustancial.

Lo mismo sucede si se compran los capítulos de sistemas fibrilares (Taylor, 1941; Pitelka, 1969) que pierden su aparente homogeneidad para resolver en grupos fibrilares y túbulos, agrupados en números definidos, ocupando sitios precisos.

En el capítulo de genética (Jennigs, 1941; Preer, 1969) las diferencias son más marcadas y, desde luego se reflejan en la ausencia de referencias al DNA, base del código genético, en el primero de ellos.

Hall, redacta en las dos ocasiones los capítulos correspondientes a alimentación, y no hace en 1967 ninguna referencia a su trabajo de 1941; pero uno de los más notorios avances es el uso en amplia escala de cultivos axénicos que permitieron precisar los requerimientos alimenticios, que veinticinco años antes, aunque ya se habían logrado no podían usarse rutinariamente, porque el único medio para purificar los organismos a cultivar, era con repetidos lavado, lo que, además de muy laboriosos, resultaba bastante inseguro. No se había encontrado una substancia apropiada para matar las bacterias contaminantes sin afectar a los protozoarios, cosa que en 1928,

Cleveland⁶⁵ consideraba como “una empresa casi imposible”. Sin embargo en 1947 Seamen⁶⁶ reportaba los buenos resultados obtenidos con la penicilina; popularizando el empleo de éste y otros antibióticos ha facilitado, popularizándolo, el uso de los cultivos axénicos, e inclusive se emplean medios de composición química definida, y en consecuencia exactamente reproducible. También es interesante notar que Hall en su segunda contribución dedica se sección específica el enfoque ecológico de los problemas alimenticios, mientras que en la primera, aunque necesariamente hace referencia ha hecho ecológico, no unifica el tratamiento de los mismo.

Este desarrollo del interés ecológico. Se manifiesta también en la inclusión, en la revisión de Chen, de un capítulo especial sobre ecología de los protozoarios libres, cosa que no aparece en la de Calkins y Summers, a pesar de que el primero le dedica tres páginas en el capítulo inicial, y desde 1933 incluía un capítulo ecológico en la 2^a edición de su *Biology of the Protozoa*. En general los estudios ecológicos ocupan sitio destacado en el campo protozoológico; prueba de ello el haberle dedicado uno de sus siete tomos el XVII Congreso Internacional de Zoología, Montecarlo, 1972, y tres de sus 26 Mesas Redondas el VI Congreso Internacional de Protozoología de Clermont Ferrand, 1973. Corliss (1973)⁶⁷ refiriéndose a este auge de las investigaciones ecológicas en el campo de la protozoología, hace notar dos obstáculos para su desenvolvimiento: 1) falta de suficiente investigación taxonómica para identificar correctamente las especies con que se trabaja; y 2) métodos de investigación más refinados en el laboratorio. Estoy de acuerdo del importante papel de la taxonomía, y su inseparable compañera la nomenclatura, como base de prácticamente todas las investigaciones biológicas, en todos los campos, en las que mala identificación taxonómica o el uso de un nombre científico incorrecto, pueden repercutir gravemente en el valor de una publicación.

* * *

El perfeccionamiento de los instrumentos de observación, es uno de los factores de mayor importancia en el progreso de las ciencias naturales; y en el campo de la protozoología, el periodo que motiva esta nota se ha beneficiado de tres de gran importancia.

En relación con la microscopía fotónica la introducción de los sistemas de contraste de fase desarrollados por Zernike (1946)⁶⁸ que permite observar en animales vivos –en campo claro y oscuro- estructuras que anteriormente sólo eran visibles en preparaciones fijadas y teñidas, es decir de animales muertos. De esta manera no sólo se han eliminado dudas de algunas estructuras, observadas en preparaciones existieran realmente –en la forma que se les contemplaba- o fueran solamente artefactos producidos por los reactivos empleados. Además han permitido seguir la secuencia de importantes procesos en animales vivos.

También el adelanto en los sistemas de microfotografía, con la introducción de cámara de pequeño formato, capaces de tomar en rápida secuencia una serie de fotografías; los fotómetros automatizados; el método de iluminación estroboscópica para fotografiar animales u organoides en rápido movimiento; y las películas de alta sensibilidad y a colores, han facilitado notablemente obtener, rápida y fácilmente, documentos gráficos de gran precisión.

Pero, indudablemente, el aporte tecnológico de mayor importancia registrado en estos últimos siete lustros que aquí reseño, fue la introducción del microscopio electrónico, que ha creado un nuevo concepto de la citología de los protozoarios.

Sin remontarnos a los largos estudios que permitieron su construcción, puede mencionarse que el primer microscopio electrónico fue puesto en el mercado por la casa Siemens en 1939 y al año siguiente la R.C.A. lanzó otro modelo que describí en la revista Ciencia (Beltrán, 1941)⁶⁹ haciendo notar que aunque su precio -para la época- era elevado -\$ 100 000.00- no quedaba fuera del alcance de nuestras instituciones por lo que propuse al Dr. J. Siurob, Jefe del Departamento de Salubridad Pública adquirir uno para el Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales, que hubiera sido el primero en el país, pero que no llegó a comprarse.

La utilización del microscopio electrónico en biología fue desenvolviéndose lentamente. En el campo de la protozoología las referencias más antiguas que he logrado localizar son la de Brown (1945)⁷⁰ que estudio la ultraestructura de los flagelos, y los de Jankus y Hall (1946)⁷¹ referentes a cilios y tricocistos de *Paramecium*.

Uno de los mayores obstáculos para aprovechar más ampliamente las posibilidades del microscopio electrónico, era la imposibilidad de obtener cortes suficientemente delgados, lo que no pudo superarse hasta 1953

en que Porter y Blum⁷² diseñaron un microtomo adecuado para tal objeto. A partir de entonces los estudios de ultraestructura se han multiplicado extraordinariamente; diez años después Pitelka (1963)⁵⁷ publicó un libro en que recopilaba lo mucho que hasta la fecha se había avanzado.

Los resultados obtenidos con el empleo de iluminación transmitida, se ampliaron y completaron con el uso del microscopio electrónico de luz reflejada, comúnmente conocido como "de barrido" ("microscope a balayage" o "scanning microscope") que desarrollado desde 1935 no entró al mercado sino en 1965 (Oatley, Nixon y Pease, 1965)⁷³ habiéndose popularizado mucho en los últimos años, por sus amplias posibilidades.

* * *

Como antes dije dos acontecimientos de sinigual importancia se produjeron en estos siete fecundos lustros, que por sí solos bastarían para hablar de un "Renacimiento" de la protozoología: la aparición de tres nuevas revistas protozoológicas, y la iniciación de Congresos Internacionales cada cuatro años.

Pero antes de comentar estos asuntos, es necesario detenernos para decir algunas palabras acerca de la Society of Protozoologists, que fue el motor que impulso tales eventos.

La Society of Protozoologists se fundó en diciembre de 1947, en los Estados Unidos; pero desde su comienzos fue de carácter internacional. El que esto escribe tuvo la satisfacción de contarse entre los Socios fundadores, y en el primer Directorio que se publicó en 1957 los miembros extranjeros representábamos el 9.74%; proporción que casi se había cuadruplicado, pues llegaba al 37.92% en el Directorio de 1973.

La agrupación creció rápidamente, pues en la primera lista de miembros que acabamos de mencionar reunía 477, que en 1973 habían aumentado a 1071.

Fue su Presidente Ross F. Nigrelli, y realizó su primera reunión formal en diciembre de 1949, bajo la presidencia de mi recordado amigo Richard P. Hall, de tan brillante trayectoria. Anualmente se continuaron celebrando reuniones en las que se presentaban trabajos, resúmenes de los cuales aparecían en un folleto. Por fin, en la quinta reunión -septiembre de 1953- presidida por David H. Wenrich, que tan fundamentales contribuciones hizo a la protozoología, se acordó crear una revista con el título de *Journal of Protozoology* – sin mención a la Sociedad- cuyo primer número (febrero, 1954) estuvo dedicado a la memoria de Lorande L. Woodruff, que tanto se distinguió con sus contribuciones acerca de la conjugación y endomixis de los ciliados, y que había fallecido seis meses antes de que se fundara la Sociedad.

El primer editor del *Journal*, quien siguió en el mismo cargo hasta 1966 en que lo sucedió Norman D. Levine fue William Trager, del Rockefeller Institute for Medical Research. El volumen inicial sólo tuvo 240 páginas, con 38 trabajos, más 71 resúmenes de los presentados en la reunión de la Society of Protozoologists. A partir de 1971 ha sido su editor, B. M. Honigberg. El último volumen aparecido (22-1975) consta de 584 páginas, con 92 trabajos. El de mayor extensión fue el 15 (1968) con 852 páginas, 130 artículos y 178 resúmenes. En total, el volumen 1, 1955 al 22, 1975, del *Journal* ha dado cabida a 1,933 trabajos -lo que significa una media aritmética de 87.56 anuales que ocuparon 11 980 páginas. Los artículos son predominantemente en inglés, aunque también se aceptan en francés y alemán.

La segunda revista en aparecer, *Acta protozoologica*, que publica trabajos en inglés, francés, alemán y ruso (y resúmenes en polaco) se publican en Warsawa, su primer volumen, de 1963 con un total de 433 páginas incluyó 36 artículos. El volumen 12 (1974) con 32 artículos ocupó 362 páginas. El total de páginas aparecidas es de 5 042, y el de artículos de 402, lo que significa una media para estos últimos de 33.5 anuales.

La tercera revista especializada, última en aparecer fue *Protistologica*, que se inicia en 1965 con un volumen de 230 páginas y 21 artículos, y en 1975 da a luz uno (Vol. 11) de 557 páginas con 27 artículos, lo que hace un total hasta la fecha de 5 583 páginas con 51 trabajos con una media anual de éstos de 43. Los idiomas empleados son el francés, inglés y alemán. El Secretario de Redacción ha sido durante todo ese tiempo A. Hollande.

Junto con estas nuevas publicaciones hay que recordar el veterano *Archiv für Protistenkunde* que cumple ya 72 años de vida, y dio a luz en 1975 su volumen 117 con 392 páginas y 30 artículos. Los idiomas aceptados son alemán, inglés y francés.

Como se ve la literatura periódica es abundante, y los protozoólogos pueden encontrar referencias a su campo

de estudio en cuatro revistas, que en total en 1975 sumaron 1895 páginas, y ofrecieron 205 artículos.

Coronamiento de este renovado interés por el estudio de los protozoarios, ha sido la realización de los Congresos Internacionales de Protozoología.

El primero se reunió del 22 al 31 de agosto de 1961 en Praga, Checoslovaquia, y recordando que en esa ciudad el investigador checo V. D. Lambl, descubrió en 1859 el flagelado intestinal que hoy conocemos como *Lamblia intestinalis*, éste fue recogido como emblema de la reunión, y se ha seguido utilizando en las subsecuentes. Motor fundamental en la organización del evento fue O. Jirovec -ya fallecido- y las memorias del mismo aparecieron con el título *Progress in Protozoology* (1963)⁷⁴ que ha continuado empleando los subsecuentes. Asistieron representantes de 21 países, que leyeron 189 trabajos que se publicaron en inglés, francés y alemán.

Se acordó que las reuniones se repitieran cada cuatro años y en consecuencia la segunda tuvo lugar en Londres⁷⁵ en 1965, organizada por P.C.C. Garnham, y en ella estuvieron representados 37 países, que contribuyeron con 357 trabajos, en inglés, francés y ruso, traducidos al inglés los dos últimos idiomas en la publicación, junto al texto original. Se eligió Presidente Honorario del Congreso, al veterano y eminente protozoólogo francés E. Fauré-Fremiet.

El tercer Congreso tuvo lugar en Leningrado del 2 al 10 de julio de 1969, y sus memorias se publicaron en dos ediciones separadas, una en inglés, francés y alemán,⁷⁶ y otra en ruso. Se presentaron 477 trabajos por participantes de 28 países. La organización estuvo a cargo de G. Poljansky.

El cuarto y último se llevó a cabo en Clermont-Ferrant en 1973,⁷⁷ organizado por P. de Puytorac, y estuvieron representados 37 países, presentándose 495 contribuciones en francés, inglés y alemán.

El Congreso se singularizó, como ya antes se dijo, por que se organizaron 27 Mesas Redondas cuyos resultados se dieron a conocer en una publicación separada que se espera se continúe en próximas reuniones. Se acordó que el próximo (V) se reúna en New York en 1977.

Si consideramos en conjunto los cuatro Congresos Internacionales de Protozoología realizados desde 1961, veremos que en ellos han estado representadas 55 naciones y que en total se han presentado 1,518 trabajos. Pero si analizamos la participación de los diversos países encontramos que sólo seis: Estados Unidos, Unión Soviética, Inglaterra, Francia, Polonia y Checoslovaquia han contribuido en todas las reuniones con 10 o más trabajos; Alemania Federal en dos y la India e Italia sólo en una cada una; ninguna de las otras han alcanzado ese número.

De los 1,518 trabajos el 33.1%, corresponde a los Estados Unidos y el 19.44% a la Unión Soviética, o sea que sólo dos naciones representan más de la mitad. Si a ellas agregamos las otras siete que una o más veces han contribuido con 10 o más aportaciones y totalizan 29.38%, que sumado a las dos primeras da 81.93%, para una nación de América del Norte, siete de Europa y una de Asia; quedando apenas el 18.07% para las 46 restantes.

Los países de habla hispana o portuguesa sólo han presentado un total de 28 trabajos como sigue: España 15, Argentina 3, México 2, Brasil 2, y Colombia, El Salvador, Costa Rica y Puerto Rico 1, cada uno, lo que significa el 1.84% del total.

* * *

Durante estos siete lustros aquí reseñados, México ha ido progresando lenta pero constantemente. El paso inicial más importante fue la creación en 1939 -dos años antes de que se publicara *Protozoa in Biological Research*- al fundarse el Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales, del primer Laboratorio de Protozoología que existió en el país, y que desde sus inicios hasta 1952 estuvo a cargo del autor de este artículo, que había recibido su entrenamiento protozoológico al lado del profesor Gray N. Calkins, en Columbia University; ese mismo año tuve la oportunidad de que por cinco meses se agregara como investigador visitante del Laboratorio que me estaba confiado, el profesor Robert Hegner, de la Johns Hopkins University, cuya valiosa colaboración sirvió de mucho para orientar sólidamente al nuevo centro de investigación. Aunque como era lógico la atención preferente se centraba en los protozoarios parásitos, especialmente humanos, la orientación de los estudios fue siempre con amplio criterio protozoológico y no solamente médico.

En el tiempo en que tuve a mi cargo el Laboratorio de Protozoología del I.S.E.T. diversos jóvenes se iniciaron ahí en la protozoología, como Armando Sandoval, Luis Villasaña, Ernesto Gutiérrez Ballesteros, Rodolfo Pérez Reyes, Alicia Pardiñas, Alfredo Dávalos, M. A. Medina, Lidia H Reyes, y otros. Además de mi libro *Los Protozoarios Parásitos del Hombre* (1948) ya mencionado, se publicó otro ese mismo año: *Lecciones de Paludología*,⁷⁸ en el que colaboró E. Aguirre Pequeño, y algo más de 120 artículos en revistas científicas de México y el extranjero. Al separarme del Laboratorio para fundar el Instituto Mexicano de Recursos Naturales Renovables, quedó a su frente Rodolfo Pérez Reyes a quien sustituyó Ernesto Gutiérrez Ballesteros, y a éste Alfredo Dávalos, que hasta la fecha lo tiene a su cargo.

Actualmente hay tres centros en la ciudad de México donde se trabaja activa y seriamente en el campo de la Protozoología con diversos enfoques.

En la Facultad de Ciencias de la UNAM, Eucario López Ochoterena ha logrado impulsar el estudio de los protozoarios, y varios de sus discípulos trabajan activamente en ese campo. El interés principal lo reciben las formas libres, especialmente Ciliados, pero también se abordan otras áreas. Los tres importantes Simposios Internacionales de Protozoología, que se han celebrado en México (1974, 1975, 1976), promovidos por López Ochoterena se mencionaron ya en páginas anteriores.

En el Departamento de Parasitología de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, a cargo de Rodolfo Pérez Reyes, se trabaja también activamente en protozoología; a aunque tanto el Jefe del Departamento como algunos de los discípulos, han hecho aportaciones al conocimiento de las formas libres, el interés fundamental se orienta a los tripanosomideos, grupo en que Pérez Reyes comenzó a trabajar desde 1949⁷⁹ y que el año siguiente le sirvió de tema para su Tesis Profesional,⁸⁰ que desarrollo en el Laboratorio del I.S.E.T entonces a cargo del que esto escribe, a quien sustituyó por un año cuando abandonó la Jefatura del mismo.

Tanto López Ochoterena como Pérez Reyes, han concurrido a varios de los Congresos Internacionales de Protozoología, y en unión del autor de este artículo trabajan desde hace algunos años en la preparación de una obra: *Protozoología. Introducción al estudio de los protozoarios libres y parásitos*⁸¹, que esperamos ver publicada en tiempo no muy lejano.

Otro importante organismo es el que dentro del Instituto Mexicano del Seguro Social ha creado Bernardo Sepúlveda del Centro de Estudios sobre Amibiasis- donde se han agrupado muy capaces investigadores nacionales. Además los seis Seminarios sobre Amibiasis (1969, 1970, 1971, 1972, 1973, 1974) y la Conferencia Internacional sobre Amibiasis (1975), permitieron la venida a México de más de medio centenar de distinguidos especialistas extranjeros que en orden alfabético fueron: E. B. Adams, V. Amado Neto, P. Ambroise Thomas, I. L. Bantagis, N. J. Vos, D. Botero, R. S. Bray, I. de Carneri, I. L. Daniel, L. S. Diamond, J. R. Dooler, A. H. Duel, R. D. P. Eaton, W. K. El-Hashini, R. Elsdon-Dew, L. K. Eveland, N. Gleason, S. K. Gosta, D. Guthrie, W. C. Harris, J. F. Hausta, G. R. Healy, K. Juniper Jr., G. Kagan, F. Kairalla, W. Kasprzak, C. H. Kean, P. B. Keister, A. A. Kettis, M. Kewney, H. M. Krupp, W. B. Lushbaugh, C. F. T. Matlern, E. Meerovitch, R. Michel, R. A. Neal, B. P. Phillips, A. H. Pitman, F. E. Pitman, J. C. Pitman, E. M. Protor, W. Reeter, R. E. Reeves, G. S. Seth, V. K. Seth, A. Tekevchi, P. E. Thompson, A. A. van den Eijk, G. S. Visvesuaro, E. C. Weinbach, M. S. Wolfe y V. Vermaker.

* * *

Quienes hemos vivido estos activos lustros del renacimiento de la protozoología, conocido más o menos de cerca a muchos de sus destacados artífices, y aun aportando algún minúsculo grano de arena a la obra, podemos ver satisfechas las metas alcanzadas, y esperar nuevos y fecundos adelantos.

Esta breve reseña, es fundamentalmente narrativa, más que interpretativa y valorativa de los logros alcanzados, los errores cometidos y los múltiples aspectos que aún esperan investigadores que les presten toda su atención.

Tampoco -cuando menos considerando mis propias limitaciones- podría servir de base para tratar de anticipar lo que el futuro nos reserve.

Una cosa sí parece evidente: la época del trabajo individual de gigantes como Müller, Ehrenberg, Dujardin, Bütschli, Calkins, Doflein, Penard y otros que pudieran tener vistas de todo el conjunto en las que al mismo tiempo

apreciaban los detalles de los más diversos campos, son prácticamente imposibles.

Sin embargo, he leído con cierta tristeza, como creo que le sucederá a todos los que han amado a los protozoarios como grupo y han gustado de llamarse "protozoólogos" -aunque su trabajo personal esté más o menos centrado en una especialidad- lo que mi admirado amigo Karl G. Grell escribía en 1973 en el Prefacio de su magnífica *Protozoology*:⁶⁰ "En mi opinión es sólo cosa de tiempo antes que el "verdadero" protozoólogo desaparezca. Habrá biólogos celulares, bioquímicos, geneticistas, y otros que trabajen con determinados protozoarios, pero muy pocos se interesarán en un grupo en conjunto, su diversidad morfológica y fisiológica, sus varios tipos de reproducción y sus relaciones con otros grupos de organismos".

Al leerlo recordé lo que hace largos 44 años escuché de labios de mi venerado maestro Gary N. Calkins, en la lección inaugural de su maravilloso curso de Protozoología en el Marine Biological Laboratory de Woods Hole, el verano de 1932, y que vertí al castellano en los apuntes que procuraba tomar con la mayor fidelidad, y que aún conservo:

"Para estudiar realmente protozoología, es necesario comprender todos los organismos que abarca esta rama de la zoología, y no solamente unas cuantas especies elegidas por sus relaciones con el hombre".

"Como ilustración general de los más amplios y fundamentales principios biológicos, como entrenamiento filosófico, como semillero inagotable de hechos que más tarde aprovecharán la embriología, la citología, la genética, y muchas otras ramas de las ciencias naturales, la protozoología ocupa un sitio indisputable e indisputado".

Es evidente que el estado actual de la ciencia hace indispensable la especialización de quienes la cultivan, sea que se refieran a un fenómeno determinado o se consagren a un grupo taxonómico de baja jerarquía.

Pero no creo que ello signifique la desaparición de los "verdaderos" protozoólogos que investigan profundamente su especialidad, pero que no pierden de vista -como marco de referencia- el grupo abigarrado que constituye el conjunto de los protozoarios.

En 1974 aparecieron las *Actualités Protozoologiques*⁸² editadas por Puytorac y Grain, con los materiales de las 27 Mesas Redondas celebradas en el IV Congreso Internacional de Protozoología: "puesta al día que representa perfectamente el estado actual de los conocimientos sobre cuestiones precisas, pero de campo suficientemente amplio, que frecuentemente sugieren rutas de investigación en esos caminos".

Debo confesar el placer con que leí *completo* el volumen, que me permitía tener una visión panorámica de un grupo zoológico que me apasiona desde mis días ya lejanos de estudiante; aunque en más de una ocasión mi falta de familiaridad sobre puntos muy concretos, me impidiera seguir con la claridad que deseaba los puntos tratados. Al terminar, me sentí satisfecho de haber realizado, a través de las páginas de las *Actualités*, un viaje fascinante por el amplio dominio de la protozoología.

NOTAS

¹BELTRÁN, E., 1974. Notas de Historia Protozoológica. III. Leeuwenhoek y el tricentenario del descubrimiento de los protozoarios. *An. Soc. Méx. Hist. Cienc. Tec.*, 4: 225-258.

²CALKINS, G.N. and F.M. SUMMERS. 1941. Protozoa in Biological Research. Columbia University Press, New York. 1148 p.

³Se menciona en inglés los encabezados de los capítulos para mayor precisión, y facilitar la comparación con el contenido de otra obra similar que Apareció 26 años después (véase No. 58).

⁴BELTRÁN, E. 1943. La deuda de la protozoología con Gary N. Calkins. *Rev. Soc. Mex. Hist. Nat.* 4:97-114.

⁵EHRENBERG, C. G. 1838. "Die Infusionsthierchen als Vollkommene Organismen", Leipzig.

⁶DUJARDIN, F. 1841. "Histoire Naturelles des Zoophytes. Infusoires", Paris.

- ⁷CLAPARÈDE, E. y J. LACHMANN. 1858. "Etudes sur les Infusories et les rhizopodes", Geneve.
- ⁸STEIN, F. 1867-1883. Der organismus der infusionstiere. I-III, Leipzig.
- ⁹FROMENTEL, E. DE. 1874. *Etudes sur les microzoaires ou infusoires proprement dits*. Paris.
- ¹⁰KENT, W. SAVILLE. (1880-83). A Manual of the infusoria, London.
- ¹¹BÜTSCHLI, O. 1880-89. Protozoen I-III, H. G. BRONN ed. Klassen und Ordnungen der Thier-Reich, Leipzig.
- ¹²DOBELL, C., 1951. In Memoriam. Otto Bütschli (1848-1920) "Architect of Protozoology". *Isis.*, 42: 20-22.
- ¹³GOLDSCHMIDT, R. B. 1956. *Portraits from memory*, Seattle, p. 76
- ¹⁴ENTZ, G. 1888. *Entwicklung der Kenntniss der Protisten. Einhistorisch-kritischer überblick*, Budapest.
- ¹⁵No olvido que en 1926 F. J. Cole publicó su *History of Protozoology*, London, que aunque muy interesante no es sino un folleto en que reproduce dos conferencias sobre el tema.
- ¹⁶CALKINS, G.N., 1901. The Protozoa. New York.
- ¹⁷CALKINS, G.N., 1909. Protozoology. New York.
- ¹⁸DOFLEIN, F. 1910. "Die Protozoen als Parasiten und Krankheitserreger", Jena.
- ¹⁹DOFLEIN, F., 1909. Lehrbuch der Protozoologie, Jena.
- ²⁰HICKSON, S. L. et al., 1909. Introduction to the protozoa, E. Ray Lankester, ed *A. treatise of zoology*, London, Vols. I-II.
- ²¹HARTOG, M., 1909. Protozoa. In: Harmer, S. F. and A. E. Shipley eds. The Cambridge Natural History, London. Vol.1:3-164.
- ²²MINCHIN, E. A., 1912. *An introduction to the study of the protozoa*, London.
- ²³DOBELL, C. 1919. The amoebae living in man. London.
- ²⁴FERNÁNDEZ GALIANO, E., 1921. Morfología y Biología de los Protozoos. Madrid.
- ²⁵WENYON, C. M. 1926. "Protozoology", London, 2 vols.
- ²⁶CALKINS, G. N. 1926. The Biology of the Protozoa. Philadelphia.
- ²⁷HEGNER, F.W. and W.M. TALIAFERRO, 1924. Human Protozoology. New York.
- ²⁸CRAIG, C.F., 1926. A manual of the parasitic protozoa of man. Philadelphia.
- ²⁹THOMPSON, J. G. y A. ROBERTSON. 1929. *Protozoology. A manual for medical man*. London.
- ³⁰HEGNER, R.W. and J. ANDREWS, eds., 1924. *Problems and methods of research in Protozoology*. New York.
- ³¹BELAR, K. 1926. *Der Formwechsel der Protistenkerne*, Jena.

- ³²KUDO, R. R. 1931. *Handbook of Protozoology*. Springfield.
- ³³KAHL, A. 1930-35. *Wimpertiere order Ciliata*, Jena. 4 vols.
- ³⁴KALMUS, H. 1931. *Paramecium das Pantoffeltierchen*. Jena.
- ³⁵JAHN, T. L. 1949. *How to know the protozoa* Dubuque.
- ³⁶BELTRÁN, E., 1948. *Los protozoarios parásitos del hombre*. México.
- ³⁷HOARE, C. A. 1949. *Handbook of medical Protozoology* London.
- ³⁷_a NEVEU-LEMAIRE, M. 1943. *Traité de Protozoologie medical et vétérinaire*, Paris.
- ³⁸DOGIEL, V. A. 1951. *Protistología general* (en ruso). Moscú.
- ³⁹GRASSÉ, P. P. et al 1952 *Protozoaires*. P. P. Grasse Ed. *Traité de Zoologie*, Paris, vol. 1-2.
- ⁴⁰JÍROVEC, O. et al 1952 *Protozoologie* (en checo). Praga.
- ⁴¹HALL, R. P. 1953. *Protozoology*, Englewood Cliffs.
- ⁴²GRELL, K. G. 1953 *Protozoology*. Jena.
- ⁴³JEEPS, M. W. 1956. *The protozoa. Sarcodina*, London.
- ⁴⁴LWOFF, A. y S. H. HUTNER. 1951-64. *Biochemistry and physiology of protozoa*, New York. 3 vols.
- ⁴⁵WICHTERMAN, R., 1953. *The Biology of Paramecium*. New York.
- ⁴⁶BEALE, G. 1954. *The genetics of paramecium aurelia*, Cambridge.
- ⁴⁷GOJDICS, M. 1953. *The genus Euglena*, Madison.
- ⁴⁸MACKINNON, D. y R. HAWES. 1961. *Introduction to the study of protozoa*, London.
- ⁴⁹MANWELL, R. D. 1961. *Introduction to Protozoology*. New York.
- ⁵⁰LEPSI, J. 1965. *Protozoologie* (en rumano), Budapest.
- ⁵¹DOGIEL, V., J. I. POLJANSKIJ y E. M. CHEJSIN. 1965. *General Protozoology*, Oxford.
- ⁵²JURAND, A. y G. G. SELMAN. 1969. *The anatomy of Paramecium aurelia*, London.
- ⁵³TARTAR, v. 1961. *The biology of Stentor*, New York.
- ⁵⁵BUETOW, D. 1968. *The biology of Euglena*, New York.
- ⁵⁶KIDDER, G. W. 1967. Protozoa. M. FLORKIN Y B. T. SCHEER eds. *Chemical Zoology*, New York, Vol. 1.
- ⁵⁷PITELKA, D. R. 1963. *Electron microscopic structure of protozoa*. New York.

- ⁵⁸CHAN, T. -T. 1967-72. *Research in Protozoology*. 4 Vols. New York.
- ⁵⁹SLEIGH, M. 1973. *The biology of protozoa* London.
- ⁶⁰GRELL, K. G. 1973. *Protozoology*, New York.
- ⁶¹HILL, D. L. 1972. *The biochemistry and biology of Tetrahymena*, New York.
- ⁶²ELLIOT, A. M. 1973. *Biology of Tetrahymena*. Stradsburg.
- ⁶³GIESE, A. C. 1973. *The biology of a light-sensitive protozoan*, Standford.
- ⁶⁴JEON, K. W. *et al* 1973. *The biology of Amoeba* New York.
- ⁶⁵CLEVELAND, L. I. 1928. *Tritrichomonas fecalis*, nov. sp. of man. *Am. J. Hyg.* 8: 990-1013.
- ⁶⁶SEAMAN, G. R. 1974. Penicilin as an agent for sterilization of Protozoan cultures. *Science*. 106:327.
- ⁶⁷CORLISS, J. O., 1973. Protozoan ecology: a note on its current status, *Amer. Nat.* 13:145-148.
- ⁶⁸ZERNIKE, F. 1946. Phase contrast: a new method for microscopic observations of transparant objects. *Achievements in optics*, Amsterdam 116-129.
- ⁶⁹BELTRÁN, E. 1941. El microscopio electrónico y sus posibilidades, *Ciencia* 2:165-168.
- ⁷⁰BROWN, H. P. 1945. On the structure and mechanics of protozoan flagella. *Ohio J. Sci* 52:106-117.
- ⁷¹JANKUS, M. A. y C. E. HALL. 1946. Electron microscopic observation of trichocysts and cilia of Paramecium *Biol. Bull.* 91:141-144.
- ⁷²PORTER, A. y J. A. BLUM. 1953. A study for microtomy for electron microscopy *Anat Rec.* 117: 685-710.
- ⁷³OATLEY, C. W., NIXON, W. C. y R. F. W. PEASE. 1965. Scanning electron microscopy. *Adv. Electr. and Elect. Phys.* 21:181-247.
- ⁷⁴LUDVIK, J., J. LOM y J. VAVRA. 1963. *Progress in Protozoology. Proc. I. Int. Congr. Protozoology, Prague* 22-31 agosto, 1961, Prague. 623 pp.
- ⁷⁵ANÓNIMO. 1965. *Progress in protozoology. Abst. Papers read II Int. Congr. Protozoology*, London 29 jul-5 agosto. Amsterdam. 278 pp.
- ⁷⁶STRELKOV, A. A. *et al.* 1969. *Progress in Protozoology. Abst. papers read. III Int. Cong. Protozool.* Leningrado, 2-10 jul- Leningrado. 399 pp.
- ⁷⁷[PUYTORAC, P. DE]. 1973. *Progress in Protozoology. Abst. papers read. IV Int. Cong. Protozoology*, Clermon-Ferrand 2-9 sept. Clermont. 479 pp.
- ⁷⁸BELTRÁN, E. y E. AGUIRRE PEQUEÑO. 1948. *Lecciones de Paludología*, Monterrey.
- ⁷⁹BELTRÁN, E. y R. PÉREZ REYES. 1949. Hallazgo de *Schyrotrypanum cruzi* en una rata (*Rattus norvegicus*) de la Ciudad de México. *Rev. Inst. Salubr. Enfer. Trop.* 10:235-238.
- ⁸⁰PÉREZ REYES, R. 1950. *Diferenciación serológica de algunas especies de la familia Trypanosomidae*. Tesis

Escuela N. de Ciencias Biológicas, I.P.N.

⁸¹BELTRÁN E., E. LÓPEZ-CHOTERENA y R PEREZ REYES. *Protozoología. Introducción al estudio de los protozoarios libres y parásitos* (En preparación).

⁸²PUYTORAC. P. DE y J. GRAIN eds. 1974. *Actualités Protozoologiques*, Clermont. I.