

3. LA VARIABILITAT DELS BACTERIS

RAMON PARÉS

Departament de Microbiologia
Universitat de Barcelona

Davant la novetat hom és radicalitza, bé a favor o bé en contra, en una perspectiva definida, deixant de banda qualsevol altre sentit que se n'escapi.

Que els petits animalons de Leeuwenhoek poguessin ésser la causa de les malalties de l'home i dels animals fou una idea que no passà pel cap de ningú que pogués ésser escoltat, fins al cap de 150 anys del descobriment, és a dir, fins a l'època de Pasteur i de Lister. No hi fa res que abans pogués ésser establerta ben clarament aquesta relació en alguns casos, com és ara en algunes malalties produïdes per fongs. El pensament mèdic es mantingué refractari tot aquell temps.

Hom sap que un canvi de mentalitat es produí a l'època en què foren coneguts els treballs sobre el carboncle. Llavors es passa a un altre punt de vista: el desenvolupament de microorganismes en l'home, en els animals o en les plantes condueix fatalment a la malaltia. No hi fa res que ja Koch hagués assenyalat que no pas tots els microorganismes produeixen malalties. La perspectiva dominant fou que els microbis són fonamentalment nocius.

És realment sorprenent que els mateixos treballs de Pasteur i Koch fossin la base sobre la qual es desenvolupà més tard una nova manera de veure les coses: el microorganisme és imprescindible per a la subsistència de l'home i de totes les altres formes de vida a la Terra. Hi ha solament uns quants microbis, que ningú no sap d'on han sortit, que efectivament són causa específica de malaltia. Cal localitzar-los, identificar-los i finalment destruir-los. Són els patògens.

Però, què son els patògens des del punt de vista històric natural? Quin fóra el futur seu i nostre si ens en des preocupàvem definitivament? No seria potser tan dolent per a nosaltres com si els eliminéssim de sobte i per sempre més. ¿És que el patogen és una roda més dins la maquinària de l'equilibri ecològic? ¿Són els patògens tan honorables com els microorganismes que fixen el nitrogen a les arrels de les lleguminoses i altres que també mantenen la necessària fertilitat dels camps, fent possible que no

ens morim de gana si hem de seguir creixent i multiplicant-nos? Però hom també pot preguntar-se si ara som igualment víctimes d'una nova fallera: la que els mots bo i dolent tenen una càrrega emocional massa antipàtica perquè puguin ésser aplicats sense més ni més i sobretot per a qualificar ens tan poc coneguts.

Després d'aquestes quatre perspectives diferents sobre la relació entre microbi i malaltia, jo voldria afegir la que el biòleg té avui sobre la variabilitat dels bacteris. Crec que a través d'ella hom pot entendre millor com alguns microbis poden arribar a assolir el paper de patògens, com poden també deixar d'ésser-ho. També, com és que els patògens poden saber escapolir-se o no del control que l'home ha sabut desenvolupar sobre ells per tal d'evitar o corregir llur acció nociva.

Cal assenyalar que, en explicar aquesta perspectiva, la de la variabilitat dels bacteris, no seran utilitzats específicament fenòmens de virulència i de resistència. Però no hi fa res, són uns mateixos mecanismes els que actuen en totes les manifestacions fenotípiques del microbi, que resten per tant incloses dins les que tractarem que incideixen en la dinàmica de la infecció, que és l'objectiu cardinal de la temàtica d'aquest Congrés.

Biotip que s'utilitza com a model de variabilitat

El tipus general de relacions que hi ha entre un patogen i la malaltia específica fou establert per a un cas concret, el del bacil del carboncle. El que sabem de la variabilitat bacteriana és en gran part el que sabem de la variabilitat de l'*Escherichia coli*. No obstant això, nosaltres no utilitzarem aquest model sinó un altre de relativament menys estudiat, però que té l'avantatge de poder posar de manifest els mateixos tipus de variacions que es coneixen a l'*Escherichia coli*, i a més a més uns altres de nous que potser tenen tanta importància com els primers en el balanç total de la variabilitat dels bacteris.

El biotip utilitzat és també un coliform, que pertany al gènere *Citrobacter*. A la taula I són indicades les seves principals diferències amb l'*Escherichia coli*.

TAULA 1

Algunes diferències característiques entre *E. coli* i *Citrobacter intermedium* C3

	<i>E. coli</i>	C3
Citrats	—	+
Ureasa	—	+
KCN	—	+
Gas de glucosa	+	—
Temp. òptima	37° C	30° C
% G + C	50-51	56-58
Mobilitat	+	÷

La soca C3 de *Citrobacter intermedium* s'agermana amb *E. coli* més que altres coliformes perquè té un catabolisme fermentatiu d'acord amb la denominada fermentació àcido-mixta, perquè fermenta la lactosa i perquè no desamina la fenilalanina.

En la taula II es presenta el comportament de la soca C3 en relació amb el d'altres biotips taxonòmicament més veïns, els inclosos en el gènere *Citrobacter*.

TAULA 2

Característiques diferents dels biotips inclosos en el gènere *Citrobacter*

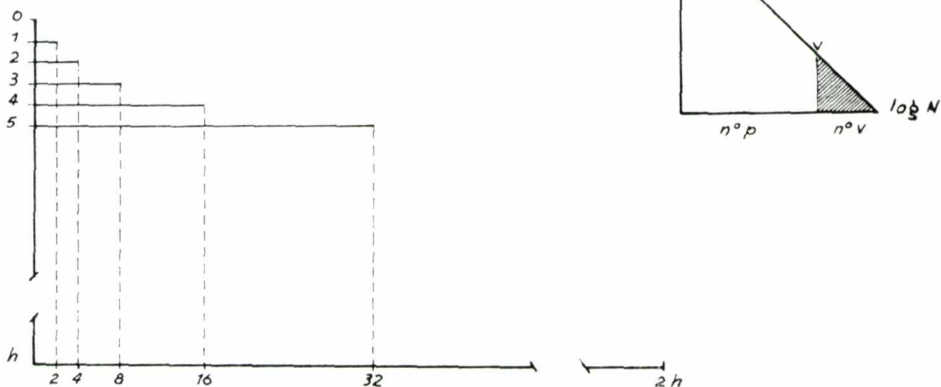
	<i>SH₂</i>	<i>Indol</i>	<i>KCN</i>	<i>Lisina</i>	<i>Malonat</i>
<i>C. freundii</i>	+	—	+	—	—
<i>C. intermedium</i>					
Biotips A	—	+	+	+	+
Biotips B	—	+	—	+	+
C3	÷	—	+	+	+

La variació dins la descendència clonal

Com es pot veure en el dibuix de la taula III, en una població clonal després de transcorregudes n generacions, tindrem N cèl·lules derivades d'un sol bacteri per divisió binària successiva. El concepte de la variabilitat en la descendència clonal pressuposa que en algun moment del seu desenvolupament apareix algun individu diferent o variant que pot transmetre les seves característiques a la descendència. Per tant, després de les n generacions tindrem una població barrejada, formada per $N = n_1 p + n_2 v$, suma dels n_1 individus iguals al tipus patern i als n_2 iguals al variant.

Aquest model suposa una doble abstracció: ens fixem en una sola característica fenotípica que, a més a més, ha de poder-se expressar en dues alternatives úniques, per exemple, resistent o sensible a l'estreptomicina, virulent o no virulent per al ratolí, etc. En realitat, a la descendència clonal poden aparèixer diferents tipus de variants, però podem considerar que el model anterior s'aplicaria a cadascun d'ells en particular. Hi poden també haver característiques que puguin expressar-se en diferents variants de tipus quantitatiu o àdhuc qualitatiu.

D'altra part se suposa també que la variació ha tingut lloc una sola vegada, però sempre es podria trobar una població equivalent derivada només d'un sol canvi en la descendència i l'esquema pot considerar-se vàlid per a l'anàlisi dels diferents tipus de variació que es poden presentar dins el conjunt d'individus derivats d'un de sol per divisió binària.



TAULA III

Variabilitat a la descendència clonal.

El postulat fonamental de la bacteriologia

La bacteriologia s'ha desenvolupat fonamentalment com a coneixement de les propietats específiques de diferents bacteris. Això només és possible si la descendència clonal es manté idèntica en ella mateixa. El principi del cultiu pur es fonamenta en aquest postulat. La mateixa definició de soca bacteriana imprescindible per a descriure la diferenciació, únicament té sentit si, fins i tot en el pitjor dels casos, la variabilitat a la descendència clonal és suficientment petita perquè les variants del tipus patern que puguin sorgir-hi siguin fàcilment identificables com a descendents d'aquell. Sabem avui que això no és pas sempre així, però la soca bacteriana continua tenint entitat perquè, en la pràctica del seu manteniment, la fracció de variants del tipus patern resulta petita, a excepció de molt pocs casos. Cal recordar que dins aquests pocs casos hi ha precisament la pèrdua de virulència o l'adquisició de resistència a un antibiòtic o un quimioteràpic.

El postulat fonamental de la bacteriologia és la uniformitat de la descendència clonal en tant que el medi de cultiu es manté constant. Si aquest varia, hi pot haver un canvi adaptatiu que afecta tots els membres de la població. El mètode de cultiu discontinu (sòlid o líquid), que és el correntment emprat, pot sobreposar un fenomen adaptatiu al desenvolupament de la població clonal. Això pot fer fins i tot heterogènia la descendència clonal, dins un interval definit de generacions, i hom creu que dóna lloc als coneguts casos de dissociació. En el cultiu continu el medi es manté rigorosament constant, però no podem oblidar que la bacteriologia s'ha fet sobre el cultiu discontinu.

La mutació

Un experiment representatiu del fenomen mutacional podria ésser el que s'esquematitza en la figura de la taula IV. Un cultiu de la soca C3 de *Citrobacter intermedium* sensible al bacteriòfag F4 pot ésser estès sobre plaques d'Agar nutritiu. Si la població sembrada és suficient, després d'incubació a una temperatura adient s'obté un creixement confluent damunt la placa. Però si a la placa s'ha estès, ensems amb els bacteris, un nombre de bacteriòfags relativament amb excés, d'habitud no s'obté cap creixement, si bé alguna vegada poden desenvolupar-se una o poques colònies aïllades. És fàcil de comprovar que aquestes colònies són el resultat de la multiplicació de variants de la descendència que han esdevingut resistents al bacteriòfag. Si una suspensió adient és estesa damunt una placa d'Agar nutritiu com abans, conjuntament amb la suspensió de bacteriòfags, després d'incubació s'obté un creixement confluent com obteníem amb el tipus patern sense afegir virus.

És forçós de pensar que en el desenvolupament de la població clonal, d'un bacteri inicialment sensible al bacteriòfag F4, ha sortit un individu resistent capaç de produir una descendència igualment resistent.

Aquest tipus de variació a la descendència clonal és degut al fenomen de mutació, el qual ha estat extensament estudiat. Pot ésser identificat amb experiments que el posen de manifest de forma crítica, on són aparents les quatre característiques de la mutació:

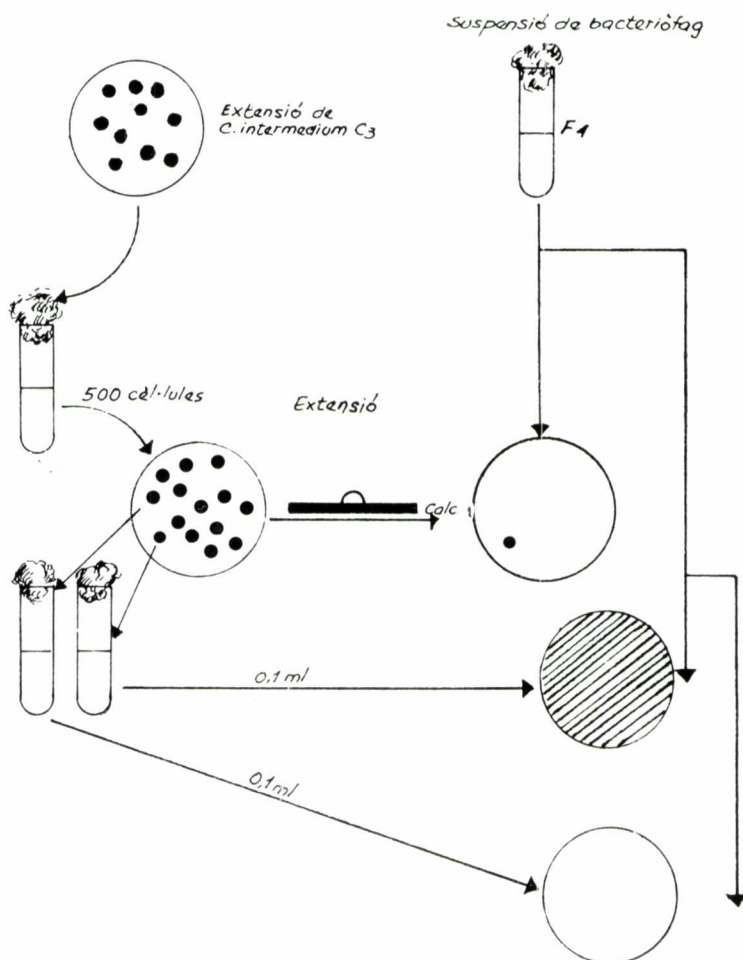
- a) Canvi genotípic, és a dir, que passa a tots els seus descendents.
- b) Manca total de sentit adaptatiu, ja que aquest tipus de canvi es dona tant en presència com en absència d'un factor selectiu. En l'experiment de la taula IV, la descendència que s'identifica resistent al bacteriòfag és la d'una cèl·lula que mai no hi ha estat en contacte.
- c) Té lloc al atzar entre qualsevol dels elements de la població clonal derivada del tipus patern. Cadascun té la mateixa probabilitat de produir la mutant en dividir-se.
- d) La probabilitat que l'esdeveniment mutacional tingui lloc és sempre molt petita. És un esdeveniment excepcional en el desenvolupament de la població clonal, i calen milions de cèl·lules perquè en doblar-se la població aparegui una mutant.

Hom sap que, avui encara, el millor mètode d'estudi dels canvis mutacionals als bacteris és la prova o assaig de la fluctuació, portada a terme primerament per Luria i Delbruck l'any 1943.

La descendència clonal pot esdevenir heterogènia com a conseqüència de la mutació.

El model de variació a la descendència clonal que abans hem exposat pot aplicar-se al canvi mutacional. Cal tenir en compte que la freqüència de la mutant a la població resulta no tan sols de la descendència de la primera mutant, sinó també de la corresponent a les noves mutacions del mateix tipus que es vagin donant. La freqüència de la mutant augmenta linealment

amb el nombre de generacions, perquè la velocitat de la mutació és constant. Malgrat això, no s'arriben a assolir valors gaire alts de la freqüència de la mutació a causa d'un fenomen que s'anomena selecció periòdica. Del conjunt de mutacions que poden donar-se sempre resulta un tipus més adaptat al medi de cultiu, i aquest tipus té molta més probabilitat d'aparèixer sobre la cèl·lula paterna, molt més nombrosa, que sobre la cèl·lula

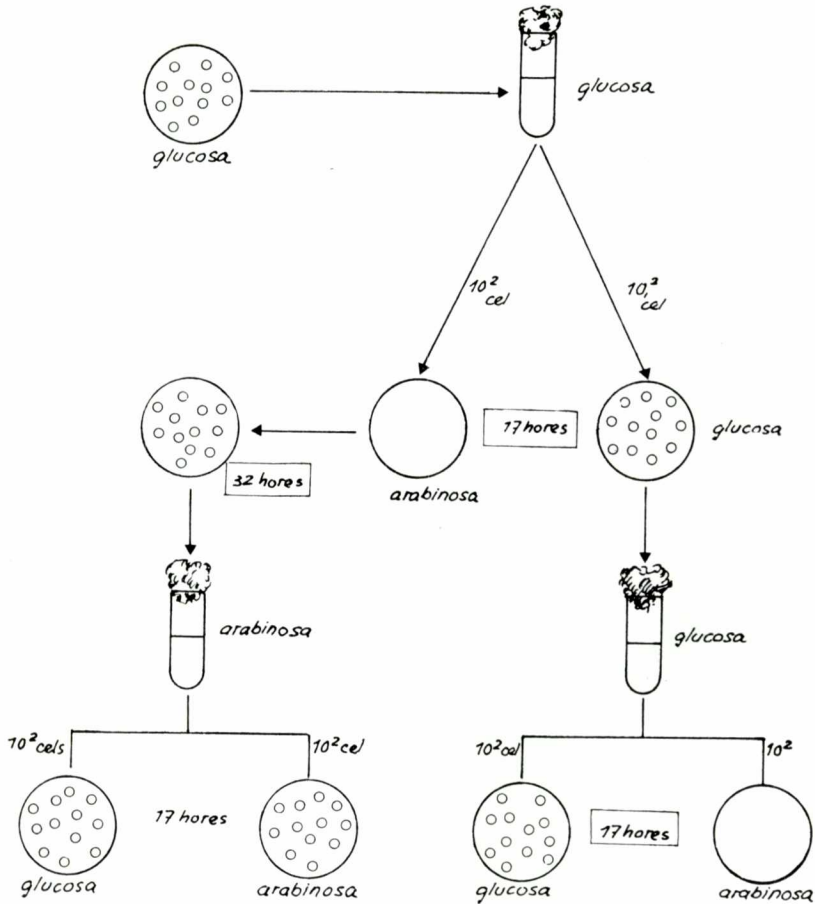


TAULA IV

Aparició de cèl·lules virus-resistents a la descendència clonal d'una cèl·lula virus-sensible.

variant respecte a un caràcter definit. Això fa que els diferents tipus de mutant no s'acumulin al cultiu.

La mutació pot tenir molta importància davant la virulència d'un bacteri per a un hoste concret, i també davant la resistència a un antibiòtic o quimioteràpic. Els factors selectius són l'hoste que destrueix o elimina tota la descendència no virulenta i el fàrmac que només deixa créixer les formes resistents.



TAULA V

Aparició de cèl·lules adaptades a l'arabinosa a la descendència clonal de cèl·lules no adaptades (*Enterobacter aerogenes*).

El fet que la fracció de mutants sigui i es mantingui petita permet que aquest fenomen de variació a la descendència clonal no invalidi el postulat fonamental de la bacteriologia, fora de quan intervingui un factor selectiu.

L'adaptació

En els dibuixos de la taula V s'esquematitza un experiment que permet de posar de manifest un fenomen gairebé oposat a la mutació.

Es un experiment molt conegut d'adaptació a una nova font de carboni i energia. L'extensió d'un cultiu d'*Enterobacter aerogenes* damunt plaques amb medi mineral amb glucosa permet d'obtenir desenvolupament colonial ben aparent després de 17 h d'incubació a 37 °C. Si el medi té arabinosa en lloc de glucosa, les colònies no es fan visibles abans de 32 h d'incubació.

Una colònia creixuda sobre el medi amb arabinosa pot ésser dispersada en solució salina i estesa sobre plaques de glucosa i d'arabinosa. En ambdós casos el creixement colonial té lloc en 17 h d'incubació. Per tant, d'una mateixa descendència clonal podem obtenir individus que difereixen de la cèl·lula original en llur capacitat d'utilitzar l'arabinosa.

La variant referida és un canvi fenotípic. Només es manté en tant que la població es desenvolupa en el medi amb arabinosa. Té un sentit clarament adaptatiu, ja que permet d'utilitzar una font de carboni i energia damunt la qual no ho podria fer el tipus patern. D'altra part té lloc en tots el individus de la descendència clonal quan llur desenvolupament passa a fer-se amb arabinosa en lloc de glucosa.

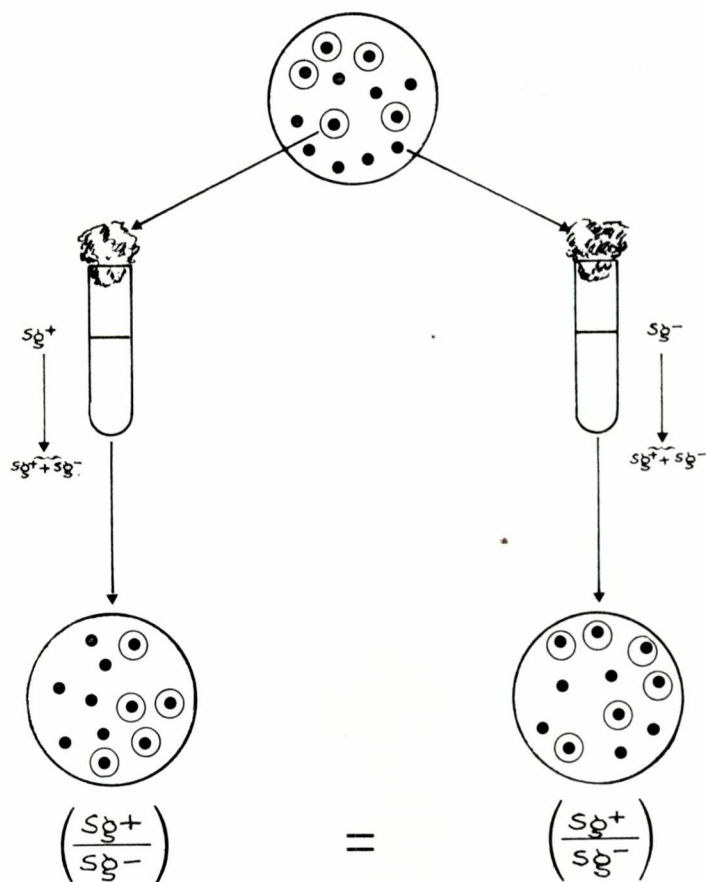
Hi ha fenòmens d'aquest tipus molt important per a la dinàmica de la infecció. Jo voldria només suggerir la importància dels bacteris que tenen un sistema de penicil·linasa induïble.

Els mecanismes de l'adaptació enzimàtica i de regulació metabòlica cara al fenomen adaptatiu han estat també profundament estudiats en els darrers anys. D'altra part, la capacitat d'adaptar-se pot perdre's per mutació, i també per mutació pot passar un sistema adaptatiu a fixar-se com a constitutiu.

La dissociació genotípica reversible

Pot anomenar-se així un tipus de fenomen de variació de la descendència clonal que no pot ésser inclòs ni en la mutació ni en l'adaptació. Probablement constitueix un aspecte de la capacitat de variació del bacteri poc analitzat encara pels genètics i bioquímics, però que potser ocupa una part quantitativament majoritària en el balanç total de la variació dins la descendència clonal.

En la taula VI s'esquematitza el desenvolupament colonial d'una extensió de cèl·lules de la soca C3 de *Citrobacter intermedium* damunt plaques de medi mineral amb glucosa. Si quan les colònies són encara petites, del



TAULA VI

Obtenció de poblacions clonals heterogènies i idèntiques a partir d'una cèl·lula excretora de glutamat i d'una cèl·lula no excretora (*Citrobacter intermedium* C3).

voltant d'un mil·límetre de diàmetre, aboquem acuradament damunt la placa una suspensió de la soca P60 de *Leuconostoc mesenteroides* en un medi que conté Agar fos i tots els components necessaris perquè pugui créixer, a excepció de l'àcid glutàmic, després de 30 h d'incubació a 37 °C podem observar que al voltant d'algunes colònies de la soca C3 es forma un halo confluent de petites colònies de *Leuconostoc*. Això només pot ésser degut al fet que entorn d'aquests tipus de colònies de la soca C3 s'acumula àcid glutàmic. A la mateixa placa hi ha també altres colònies de la soca C3 que no presenten cap halo de creixement de *Leuconostoc* a llur voltant, és a dir,

que al voltant d'aquestes no s'acumula àcid glutàmic. Aquests dos tipus de colònies s'anomenen A i C, i per unes condicions estandarditzades de treball la fracció de colònies excretores de glutamat és sempre rigorosament constant. Tenim un clàssic fenomen de dissociació colonial amb una relació 6/4 entre ambdues fases.

A la fotografia de la figura 1 pot observar-se una colònia A de la soca C3 voltada de l'halo de microcolònies de *Leuconostoc mesenteroides*. Podem comparar-la amb l'aspecte de la colònia de tipus C que hi ha a la fotografia de la figura 2.

Tornant a la taula VI, podem observar que el subcultiu d'una colònia excretora de glutamat permet d'obtenir un nou desenvolupament colonial constituït per una mateixa proporció de colònies excretores i de no excretores. És certament sorprenent que passi això mateix amb un subcultiu d'una colònia no excretora.

Aparentment, a la descendència clonal de cada membre de la població de la soca C3 hi ha dues menes d'individus, uns Sg^+ d'excretores i altres Sg^- de no excretores. No obstant això, les dues poblacions clonals heterogènies acaben essent aviat indistingibles. Ací sí que ens trobem en conflicte amb el postulat fonamental de la bacteriologia. Per un cantó, dues cèl·lules fenotípicament diferents, com és ara les Sg^+ i les Sg^- , donen una mateixa descendència clonal. A més a més, en tots dos casos la descendència clonal és heterogènia.

Si suposem que les colònies de tipus A s'originen d'individus excretores Sg^+ i les de tipus C de no excretores Sg^- , hom pot fer experiments que permeten de quantificar la cinètica de l'esdeveniment $Sg^+ \rightleftharpoons Sg^-$ en el desenvolupament de la població clonal, tot arribant a una velocitat del canvi de l'ordre de 10^{-2} cèl·lules per generació, tant en un sentit com en l'altre. En la formació d'una colònia es dona un nombre de generacions suficientment petit perquè en la major part dels casos només s'acumuli àcid glutàmic al voltant d'aquelles que han estat originades d'una cèl·lula Sg^+ . No obstant això, l'alta probabilitat de la interconversió de $Sg^- \rightleftharpoons Sg^+$ dona lloc que una petita part de les colònies de tipus A sigui derivada de cèl·lules Sg^- , que normalment es reconeixen perquè l'halo de creixement és més reduït i de vegades sols visible al microscopi. Aquestes colònies, que s'anomenen de tipus B, han estat tingudes en compte en els experiments quantitius a què faig referència.

Si comparem aquesta dissociació genotípica amb el canvi mutacional, trobarem que hi té en comú:

- a) la natura heretable o genotípica del canvi,
- b) la manca de sentit adaptatiu, i
- c) el que es dona com a un esdeveniment aleatori en tots els membres de la població.

En canvi, difereix clarament del fenomen mutacional en el fet que, tant en un sentit com en l'altre, es produeix a una velocitat extraordinàriament alta, de l'ordre d'un milió de vegades més que amb la que acostuma

a produir-se la mutació. Aquesta diferència determina un fenomen en la dinàmica de la població totalment característic, el denominat equilibri mutacional, que no es dona mai en les mutacions com a conseqüència de la selecció periòdica a què abans hem fet referència. La constància de la relació entre colònies de tipus A i C és una expressió de l'equilibri mutacional. Les cèl·lules Sg^+ i Sg^- donen colònies diferents perquè la població d'una colònia és prou petita per a no poder assolir l'equilibri mutacional.

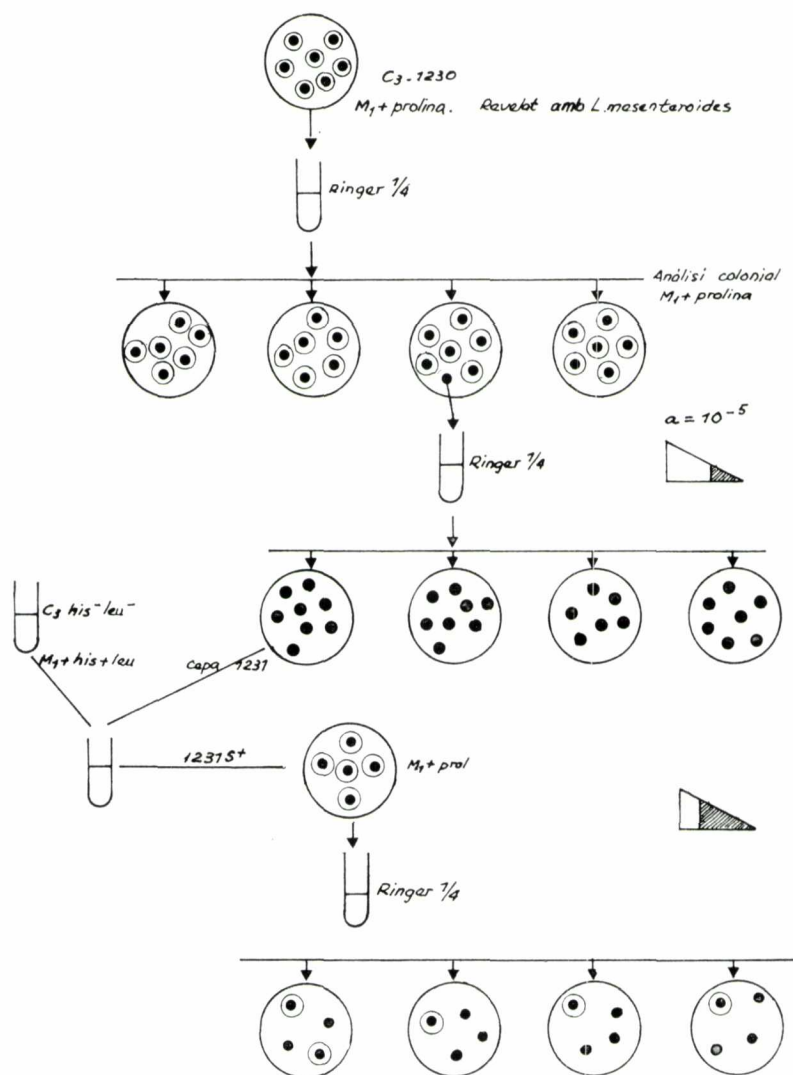
Dissociació irreversible

Ha estat possible d'obtenir mutants auxotròfics dependents de la prolina que presenten la singularitat de donar una descendència clonal fonamental uniforme i constituïda d'elements excretors Sg^+ . Una mutant d'aquest tipus és la 1230, i en la taula VII és expressat el resultat que hom pot obtenir per anàlisi colonial amb *Leuconostoc*. No obstant això, analitzant un gran nombre de colònies hom pot trobar-ne alguna de tipus C. La dissociació $Sg^+ \rightarrow Sg^-$ té lloc en aquesta soca mutant, però a una velocitat més de mil vegades més petita que a la soca salvatge C3. Tanmateix, encara aquest canvi és prou freqüent a la població perquè no el puguem incloure dins un fenomen mutacional.

Una altra característica potser encara més sorprenent de la soca 1230 és la de l'estabilitat de la descendència de les colònies C obtingudes d'ella. Aquestes ja mai no donen individus excretors. A les mutants prolina menys del tipus de la soca 1231, el canvi genètic $Sg^+ \rightarrow Sg^-$ no pot donar-se en absolut.

De l'aïllament d'una colònia C derivada de la soca 1230 s'ha obtingut la 1231, que després de nombrosos subcultius es manté constituïda únicament d'elements no excretors. Com s'esquematitza en la taula VII, hi ha un sistema perquè la soca 1231 pugui recuperar la propietat d'excretar glutamat. Una incubació mixta amb la soca C3 dona aquest resultat. La soca 1231 pot separar-se fàcilment de la soca salvatge sobre plaques de medi mínim més prolina. En aquest medi no pot créixer la soca salvatge perquè en realitat s'utilitza una mutant que no creix si no s'afegeixen histidina i leucina al medi de cultiu. És sorprenent de verificar que quasi la totalitat de les cèl·lules de la soca 1231 han passat a ésser excretores Sg^+ . La propietat que no podien mai adquirir elles totes soles els ha estat transmesa per infecció.

Podem ara novament estudiar la descendència clonal d'una colònia excretora de la soca 1231, tal com també és indicat a la taula VII. Llavors hom pot constatar novament una dissociació resultat del canvi $Sg^+ \rightarrow Sg^-$. Ací aquest canvi torna a tenir lloc exactament amb la mateixa freqüència que a la soca salvatge. No obstant això, és irreversible com en la 1230. Les colònies C donen uniformement una descendència no excretora en absolut.



TAULA VII

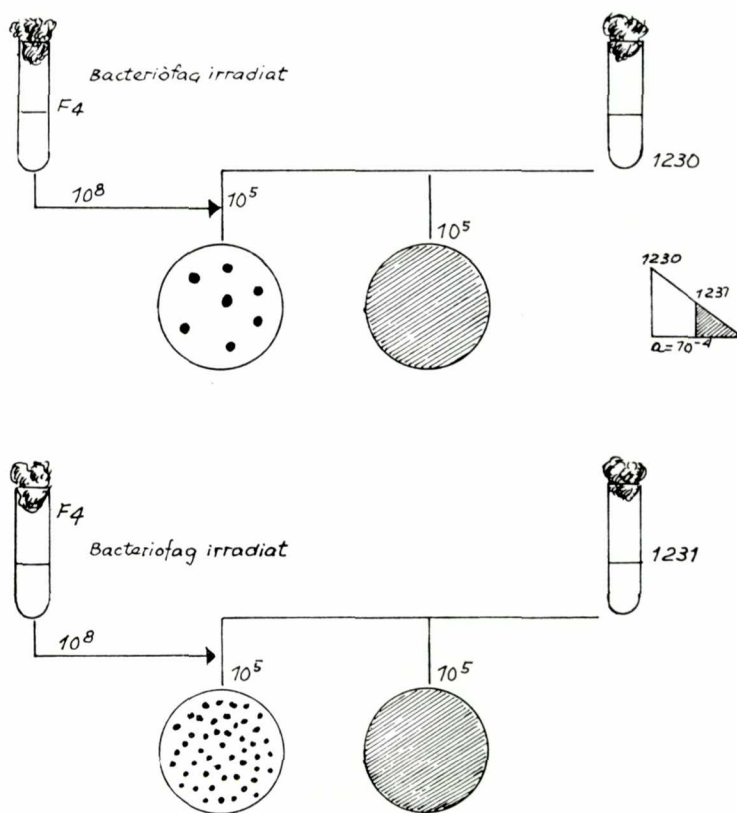
Variació sg+ — sg— a la descendència clonal de les soques 1230 i 1231 de *Citrobacter intermedium*.

Jo vull cridar l'atenció sobre el fet que un mateix canvi genotípic de tipus no mutacional opera ben diferentment a la soca C3, a la 1230 i a la 1231. L'expressió d'aquest canvi és l'alliberació d'àcid glutàmic al medi, però no hi ha cap raó per a creure que altres característiques de la fisiologia bacteriana que poden tenir influència en els fenòmens de virulència i resistència, no tinguin un comportament semblant.

Sensibilitat a la radiació ultraviolada

La soca 1231 pot considerar-se que és constituïda per una variant que apareix a la descendència clonal de la soca 1230 amb una probabilitat de l'ordre de 10^{-40} per cèl·lula i generació.

Hi ha un bacteriòfag denominat F4 actiu sobre les soques C3, 1230 i 1231. Si aquest bacteriòfag s'inactiva amb una dosi apropiada de radiació ultraviolada, la resposta a la infecció és molt diferent en la soca 1230 i en la 1231. Això és expressat en el gràfic de la taula VIII. En el primer cas



TAULA VIII

Aparició de formes sensibles a la irradiació ultraviolada a la descendència clonal de la soca 1230 de *Citrobacter intermedium* C3.

s'obté un efecte lític gairebé idèntic al del bacteriòfag sense irradiar. En canvi, en la soca 1231 s'obté una supervivència bacteriana molt més gran, com si l'aparició de resistència a la soca 1231 davant el bacteriòfag irradiat fos molt més elevada que no pas en la 1230. Tanmateix, aquest comportament és idèntic al que s'observa en les mutants bacterianes sensibles a la radiació ultraviolada davant llurs soques salvatges. Com que aquestes mutants no poden restaurar les lesions que presenta l'ADN fàgic, aquest no es pot multiplicar i l'efecte lític és pobre. S'ha pogut efectivament comprovar que la soca 1231 és molt més sensible a la radiació ultraviolada que no pas la 1230, i que l'explicació correcta deu ésser aquesta.

Cal assenyalar que la sensibilitat a la radiació ultraviolada pot presentar-se com a resultat d'una mutació i com a resultat d'una dissociació genotípica. Aquest potser constitueix un bon exemple per a fer pensar en la gran amplitud de possibilitats d'aquest tipus de variació a la descendència clonal.

Modificació de l'estabilitat dels gens

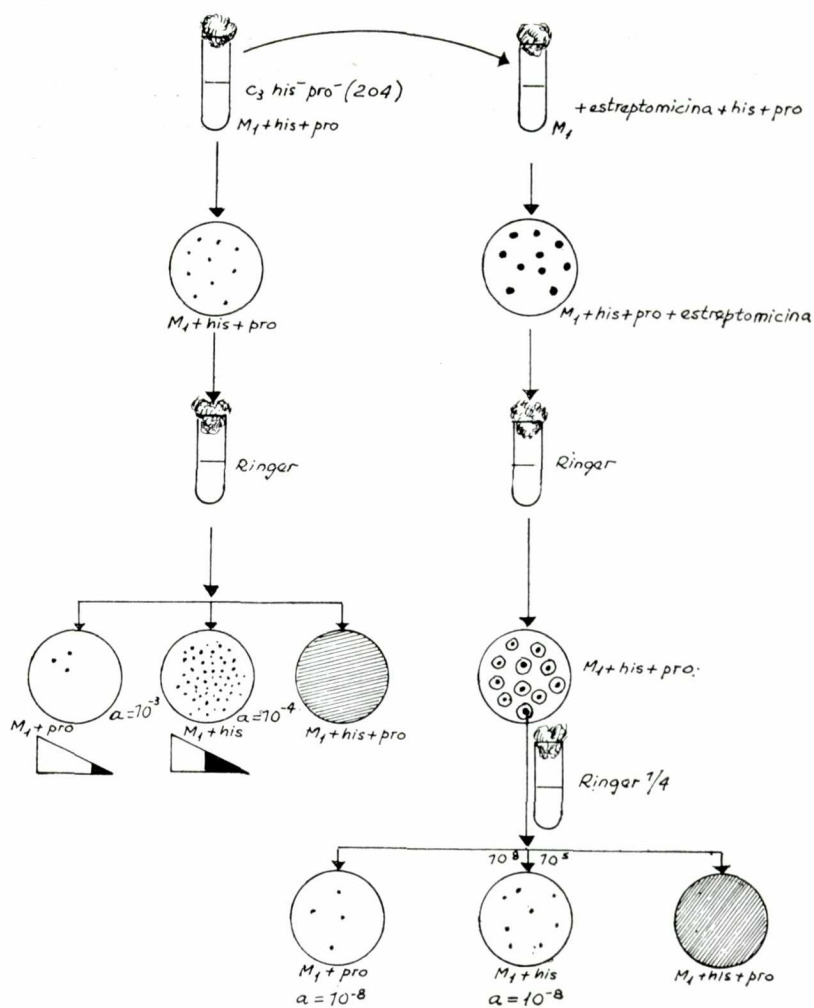
Els experiments que acabem de descriure constitueixen exemples de canvis genètics de tipus no mutacional. En un d'ells, àdhuc el mateix tipus de canvi pot tenir lloc amb freqüències diferents, sempre molt superiors als d'una mutació. En l'experiment últim tenim un canvi genètic que pot donar-se tant com a conseqüència d'una mutació clàssica com d'una dissociació genotípica.

En la taula IX es representen uns experiments en els quals es posa de manifest que un canvi de tipus mutacional com el del marcador $pro^- \rightarrow pro^+$ pot tenir lloc amb una freqüència molt alta en uns casos i alternativament, de forma completament controlada per nosaltres, a una velocitat tan baixa com la mutació clàssica.

La soca 204 és una altra mutant pro^- de la soca C3. En l'excreció de glutamat no presenta cap diferència en el tipus patern i, com es pot veure en la taula IX, la seva descendència manifesta la singular propietat de retromutar a una gran velocitat. Una comparació de l'estabilitat del gen *pro* en aquesta soca amb la d'un altre gen cromosòmic, l'*his*, permet de veure-ho ben clarament.

La soca C3 desenvolupa fàcilment resistència a l'estreptomicina. Amb aquest antibiòtic són seleccionades simultàniament les mutants estreptomicina⁻ resistents i les cèl·lules Sg⁺. Aquestes cèl·lules Sg⁺ tenen el caràcter excretor més estable que el corresponent al tipus patern, semblant a la soca 1230. Però ací el canvi continua essent perfectament reversible, com a la soca C3 salvatge.

Fent una selecció com l'esmentada de cèl·lules strep^R excretores a partir de la soca 204, pot posar-se de manifest que l'estabilitat del gen *pro* passa a ésser del mateix ordre de magnitud que la del gen *his*. Quan l'esdeveni-



TAULA IX

Modificació de l'estabilitat del caràcter *pro-* a la mutant 204 de *Citrobacter intermedium* C3.

ment $\text{Sg}^+ \rightarrow \text{Sg}^-$ és menys probable, l'estabilitat del gen *pro* és molt més gran que quan el canvi és molt més ràpid, essent com és en ambdós casos reversible. En altres mutants *pro-* la retromutació no pot donar-se mai.

Tenim doncs el remarcable fenomen d'una interacció entre la dissociació genotípica i l'estabilitat de gens cromosòmics.

No considerarem ara ací dos altres tipus de variació dels bacteris: els que resulten de la transferència infecciosa de gens, bé sigui entre els individus de la pròpia descendència clonal o bé entre els de dues soques diferents que es desenvolupen conjuntament. No obstant això, potser amb el que hem dit n'hi ha prou per a arribar a una conclusió fonamental per al nostre objectiu, i és la que, avui, la identitat del patogen només té sentit en un sistema hoste-paràsit definit en l'espai, en el temps i dins una població determinada de l'hoste; en cap cas com un biotip bacterià estàtic.