

CONTRIBUCION AL CONOCIMIENTO DE LAS LEVADURAS DEL AGUAMIEL Y DEL PULQUE

Por MANUEL RUIZ O.,
del Instituto de Biología.

IV

TORULOPSIS AQUAMELLIS sp. nov.

AISLAMIENTO

Para efectuar el aislamiento de esta especie se ha seguido el mismo método indicado en nuestros trabajos anteriores, en los cuales se describieron las especies de levaduras denominadas **Saccharomyces carbajali**, **Pichia barragani** y **Torulopsis hydromelitis**.

Los cultivos fueron logrados, en distintas ocasiones, a partir de varias muestras de aguamielos y pulques tomados en diversos lugares de producción y del pulque que se expende en la ciudad de México. Obtenidas numerosas colonias en cajas de Petri, aislamos de ellas por el método de Lindner, logrando así cultivos completamente puros.

CARACTERES MACROSCOPICOS DE LA VEGETACION EN MEDIOS LIQUIDOS

Mosto de cerveza

Temperatura: 24° — 25° C.

Velo: a los 20 días se forman pequeños islotes de velo de color grisáceo; a los 30 días los islotes se han extendido y casi cubren toda

la superficie del medio, tomando un color moreno amarillento; entre los 45 y 60 días se integra un velo mucoso, brillante, denso y de color moreno obscuro.

Anillo: a los 5 días se inicia la formación de un anillo cuyo desarrollo se completa a los 9 días y el cual es delgado, fino, transparente y de color blanco grisáceo; a los 20 días toma color moreno blanquizco y se hace opaco; a los 30 ó 40 días se torna moreno amarillento.

Sedimento: a las 48 horas se observa un depósito de un desarrollo muy escaso y de color moreno; a los 20 días tiene un desarrollo mediano, pero en ningún caso llega a ser abundante.

Fermentación: no se observa.

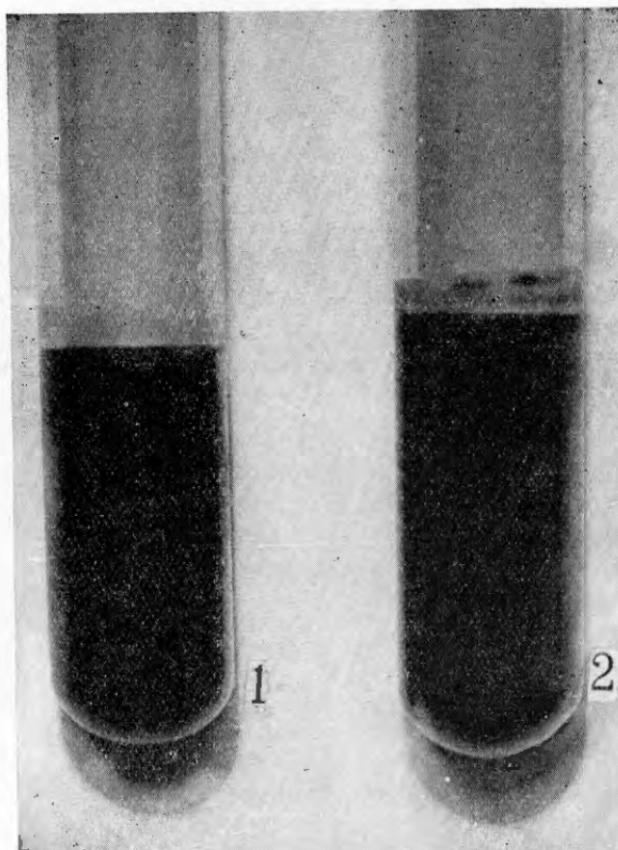


Fig. 1.—Cultivo en medios líquidos (20 días): 1.—Mosto de cerveza; 2.—Aguamiel simple. (Prep. de M. Ruiz O.; Fot. I. Larics).

Enturbiamiento: el medio se conserva claro y transparente hasta los 8 días; a los 10 días se enturbia ligeramente y así se conserva hasta los 40 días, después de los cuales el enturbiamiento desaparece.

Aguamiel simple

Temperatura: 24° — 25° C.

Velo: a los 30 días se forman pequeños islotes de velo de color moreno amarillento; entre los 45 y 50 días se integra un velo mucoso, brillante, de superficie granulosa y color moreno claro.

Anillo: a los 7 días se comienza a formar un anillo y sólo se notan pequeñas colonias aisladas en las paredes del tubo; a los 10 días el anillo completa su formación, siendo translúcido y de color grisáceo; a los 30 días, ciertos sitios del anillo se vuelven opacos y de color moreno amarillento; a los 50 días todo el anillo toma color moreno oscuro y se torna opaco.

Sedimento: hasta los 30 días presenta los mismos caracteres que los observados en el sedimento obtenido en mosto de cerveza, pero a los 50 días, se nota muy abundante y de color moreno oscuro.

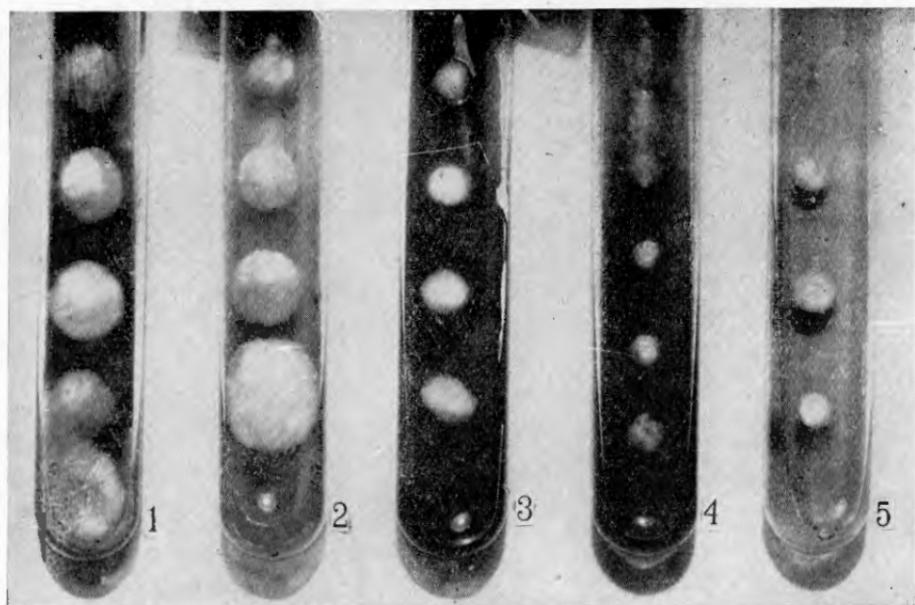


Fig. 2.—Cultivos en medios sólidos (20 días): 1.—Mosto gelosado; 2.—Aguamiel gelosado; 3.—Mosto gelatinado; 4.—Aguamiel gelatinado; 5.—Gelatina. (Prep. de M. Ruiz O.; Fot. I. Larios).

Fermentación: no se observa.

Enturbamiento: el medio se conserva claro y transparente y solamente a los 30 días se nota un ligero enturbiamiento que en pocos días desaparece.

CARACTERES MACROSCOPICOS DE LOS CULTIVOS EN MEDIOS SOLIDOS

Mosto gelosado

Temperatura: 24° — 25° C.

Edad del cultivo: 10 días.

Forma: circular.

Superficie: lisa; se forman algunas estrías muy finas y que irradian del centro a la periferia.

Elevación: convexa y pulvinada

Bordes: enteros.

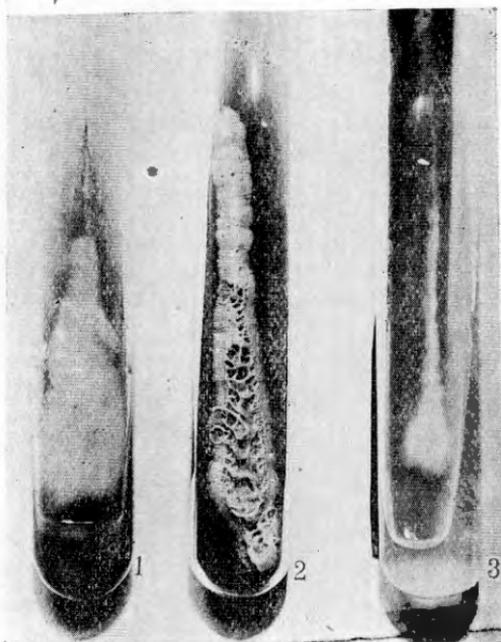


Fig. 3.—Cultivos en estría (20 días): 1.—Mosto gelosado; 2.—Aguamiel gelosado; 3.—Gorodkova. (Prep. de M. Ruiz O.; Fot. I. Larjos).

Color: moreno obscuro.

Caracteres ópticos: opaco.

Brillo: regular.

Acción sobre el medio: ninguna.

Dimensiones: 11 mm. diámetro.

Desarrollo: a los 30 días los caracteres anteriores se conservan; a los 60 días la superficie se torna muy rugosa, los bordes ondulados, se pierde el brillo y el color moreno se hace más obscuro.

CARACTERES DE LAS COLONIAS EN MEDIOS SOLIDOS

	Aguamiel gelosado.	Mosto gelatinado.	Aguamiel gelatinado.	Gelatina.
Temperatura.	24°-25° C.	19°-20° C.	19°-20° C.	19°-20° C.
Edad de los cultivos.	15 días.	15 días.	15 días.	15 días.
Forma.	Circular.	Circular.	Circular.	Circular.
Superficie.	Lisa; algunas estrías finas irradian del centro a la periferia.	Lisa; en la periferia se notan estrías apenas visibles que no llegan al centro.	Surcada por numerosas estrías muy finas dispuestas en radios.	Lisa.
Elevación.	Convexa; poco elevada en el centro.	Convexa y algo pulvinada.	Convexa.	Ligeramente convexa.
Bordes.	Enteros.	Enteros.	Irregularmente ondulados.	Enteros.
Caracteres ópticos.	Opacos.	Opacos.	Ligeramente opalescentes.	Ligeramente opalescentes.
Brillo.	Mediana.	No tiene.	Mediana.	Poco.
Acción sobre el medio.	Ninguna.	Ligera licuefacción. A los 30 días es completa.	Ligera licuefacción; a los 30 días es mayor.	Ninguna; a los 30 días se inicia la licuefacción.
Dimensiones.	15 mm. d.	7 mm. d.	5.5 mm. d.	6 mm. d.

CULTIVOS EN ESTRIA

Mosto gelosado

Temperatura: 25° C.

Edad del cultivo: 30 días.

Forma: extendida, abarca todo el ancho del tubo.

Superficie: un poco rugosa en el centro; periferia lisa.

Elevación: ligeramente convexa.

Bordes: ondulados.

Color: moreno oscuro.

Caracteres ópticos: opacos.

Brillo: regular.

Acción sobre el medio: ninguna.

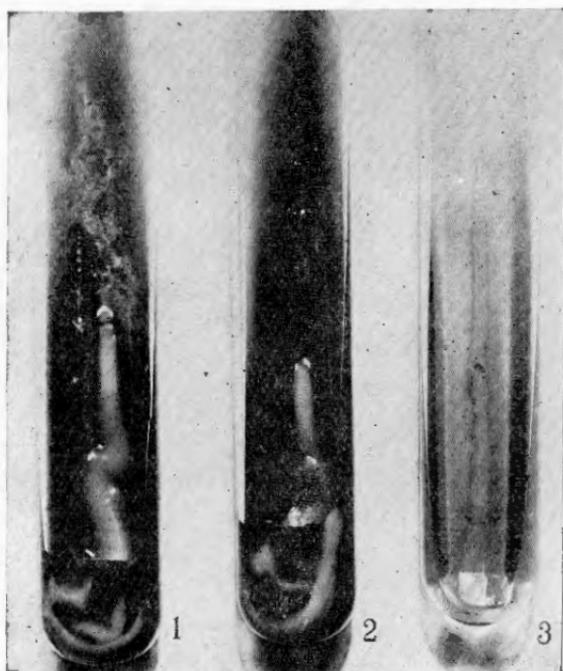


Fig. 4.—Cultivos en estría (20 días): 1.—Mosto gelatinado; 2.—Aguamiel gelatinado; 3.—Gorodkowa. (Prep. de M. Ruiz O.; Fot. I. Larios).

CARACTERES DE LOS CULTIVOS EN ESTRIA

	Aguamiel ge- losado.	Mosto gelati- nado.	Aguamiel ge- latinado.	Gelatina.	Gorodkowa.
Temperatura.	25° C.	18°-19° C.	18°-19° C.	18°-19° C.	25° C.
Edad de los cultivos.	30 días.	15 días.	15 días.	30 días.	30 días.
Forma.	Equinulada; muy exten- dida.	Equinulada.	Equinulada.	Filiforme.	Equinulada; ensanchada en la base.
Superficie.	Muy rugosa, especialmen- te en el cen- tro; se for- man peque- ños orificios que después se hacen más gran- des.	Lisa.	Lisa.	Lisa.	Lisa.
Elevación.	Umbonada; centro bas- tante eleva- do.	Levemente convexa.	Levemente convexa.	Plana.	Plana.
Bordes.	Ondulados.	Enteros.	Enteros.	Ondulados.	Ondulados.
Color.	Moreno obs- curo.	Moreno ama- rillento.	Moreno ama- rillento.	Blanco grisá- ceo.	Blanco grisá- ceo.
Caracteres ópticos.	Opacos.	Opacos.	Opacos.	Opalescentes.	Opacos.
Brillo.	Mediano.	Intenso.	Intenso.	Intenso.	Intenso.
Acción sobre el medio.	Ninguna.	Ligera licue- facción.	Ligera licue- facción.	Se esboza una leve li- cucción.	Ninguna.

CULTIVOS EN PICADURA

Temperatura empleada en medios no gelatinados: 25° C.

Temperatura empleada en medios gelatinados: 18° — 19° C.

Edad de los cultivos: 15 días para mosto y aguamiel gelatinados;
30 días para los demás medios que se citan.

Mosto gelosado

Forma del crecimiento: filiforme.

Caracteres ópticos: translúcidos.

Acción sobre el medio: ninguna.

Desarrollo: a las 24 horas se nota el cultivo a lo largo del piquete; el crecimiento, aun después de dos meses, es muy pobre. La superficie se cubre completamente a los 30 días.

Aguamiel gelosado

Forma del crecimiento: filiforme.

Caracteres ópticos: opalescentes.

Acción sobre el medio: ninguna.

Desarrollo: semejante al observado en mosto gelosado.

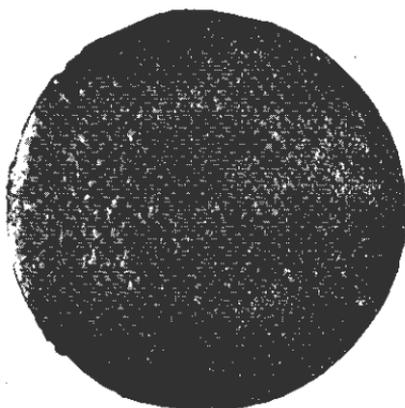


Fig. 5.—Colonia gigante en aguamiel gelosado (30 días). (Prep. de M. Ruiz O.; Fet. I. Larlos).

Mosto gelatinado

Forma del crecimiento: filiforme.

Caracteres ópticos: translúcidos.

Acción sobre el medio: a los 15 días se inicia una licuefacción del medio, que es casi completa a los 45 días.

Desarrollo: a las 48 horas el cultivo se nota a lo largo del piquete en donde no llega a adquirir gran desarrollo; la superficie no se cubre completamente con el cultivo.

Aguamiel gelatinado

Los caracteres de los cultivos son muy semejantes a los obtenidos en mosto gelatinado.

Gelatina

Forma del crecimiento: filiforme.

Caracteres ópticos: translúcidos.

Acción sobre el medio: se inicia a los 30 días una ligera licuefacción.

Desarrollo: a las 48 horas se nota apenas el cultivo a lo largo del piquete, en donde sólo llega a adquirir un leve desarrollo; la superficie se hunde tomando el aspecto de un embudo, lo cual se debe a la licuefacción.

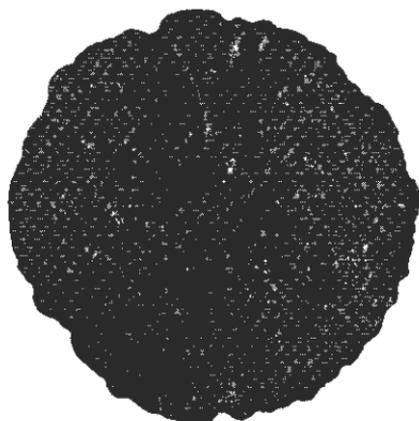


Fig. 6.—Colonia gigante en medio de Gorodkowa (30 días). (Prep. de M. Ruiz O.; Fot. I. Larios).

Gorodkowa

Forma del crecimiento: filiforme.

Caracteres ópticos: transparentes.

Acción sobre el medio: ninguna.

Desarrollo: a las 48 horas se nota el cultivo a lo largo del piquete, pero el desarrollo no llega a ser intenso; la superficie no se cubre completamente.

CARACTERES DE LAS COLONIAS GIGANTES

Mosto gelosado

Temperatura: 25° C.

Edad del cultivo: 30 días.

Forma: circular e irregular.

Superficie: se forman pequeñísimas granulaciones en la superficie, especialmente en el centro, en donde es francamente granulosa.

Elevación: pulvinada.

Bordes: ondulados.

Color: moreno oscuro.

Caracteres ópticos: opacas.

Brillo: intenso.

Acción sobre el medio: ninguna.

Dimensiones: 25 mm. d.

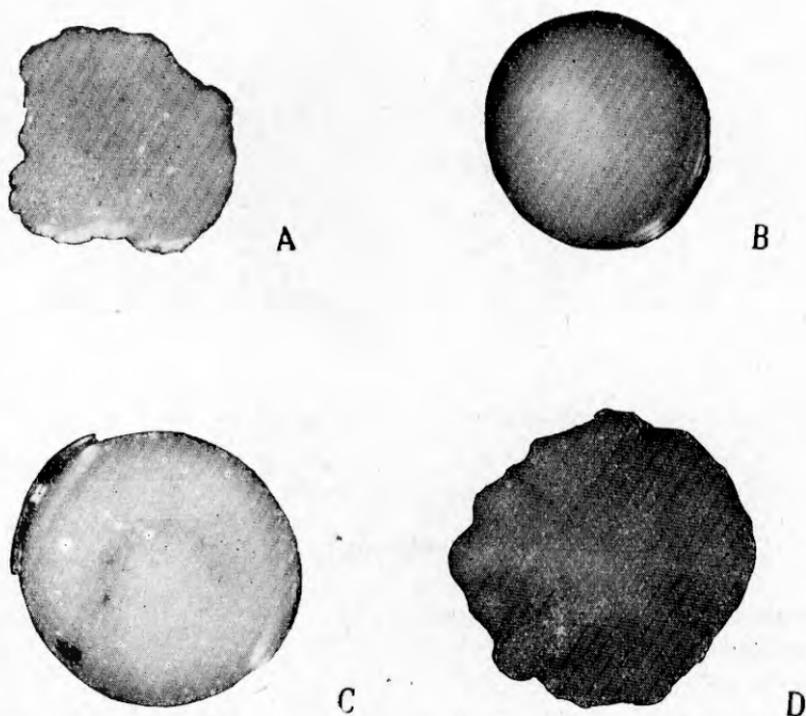


Fig. 7.—Colonias gigantes en diversos medios de cultivo: A.—Mosto gelosado; B.—Mosto gelatinado; C.—Aguamiel gelatinado; D.—Gelatina. (Edad de las colonias: 30 días). (Prep. de M. Ruiz O.; Fot. I. Laríos).

CARACTERES DE LAS COLONIAS GIGANTES

	Aguamiel ge- losado.	Mosto gelati- nado.	Aguamiel ge- latinado.	Gelatina.	Gorodkowa.
Temperatura.	25° C.	18°-19° C.	18°-19° C.	18°-19° C.	18°-19° C.
Edad del cul- tivo.	30 días.	30 días.	30 días.	30 días.	30 días.
Forma.	Circular.	Circular.	Circular.	Circular ó irregular.	Circular.
Superficie.	Granulosa y con numero- sas estrías radiales y poco profun- das en la periferia.	Lisa.	Lisa.	Lisa; algunas estrías ra- diales poco visibles.	Muy granulo- sa y con es- trías radia- les y muy fi- nas en la periferia.
Elevación.	Pulvinada.	Umbonada; a centro eleva- do.	Plana; a ve- ces el cen- tro un poco elevado.	Plana; centro un poco ele- vado.	Plana.
Bordes.	Finamente ondulados.	Enteros.	Enteros.	Ondulados.	Ondulados.
Color.	Moreno; leve- mente ama- rillento en el centro.	Moreno ama- rillento.	Moreno.	Moreno grisá- ceo.	Moreno ama- rillento; una delgada fa- ja en la pe- riferia es mo- reno grisá- ceo.
Caracteres ópticos.	Opacas.	Opacas.	Opacas.	Opacas.	Opalescentes.
Brillo.	Mediano.	Intenso.	Intenso.	Intenso.	No hay.
Acción sobre el medio.	Ninguna.	Licuefacción.	Licuefacción muy inten- sa.	Licuefacción poco inten- sa.	Ninguna.
Dimensiones.	23 mm. d.	14 mm. d.	15 mm. d.	16 mm. d.	24 mm. d.

CARACTERES MICROSCOPICOS DE LAS CELULAS

Mosto de cerveza

Temperatura: 24° — 25° C.

Edad del cultivo: 48 horas.

Forma de las células: la gran mayoría son esféricas, muy pocas ovales; a los 10 días aparecen formas elípticas; a los 60 días predominan las esféricas, pocas son elípticas y muy raras ovales.

Agrupamiento: las células se conservan aisladas durante todo el tiempo que dura el cultivo.

Brotos: la gran mayoría de las células con un solo brote; a los 60 días pocas poseen brotes.

Citoplasma: obscuro, muy granuloso; en pocas células no hay granulaciones (o existen pocas) y el citoplasma es claro y transparente.

Vacuolas: en muy pocas células se observan una o dos vacuolas pequeñas o grandes.

Grasa: muy numerosos y pequeños glóbulos de grasa; a los 10 días algunos glóbulos aumentan de dimensiones; el cultivo así se conserva, aun a los 90 días.

Gránulos metacromáticos: se notan muy pocos durante todo el tiempo que se obtuvo el cultivo.

Ascas y ascosporas: no se forman.

Dimensiones: la mayoría de las esféricas tienen: (6-7) por (6-7) micras, aunque algunas son más pequeñas o más grandes: (4-5) por (4-5) micras, (8-9) por (8-9). Los ovales tienen: (6-7) por (7-8) micras. A los 10 días las dimensiones se hacen un poco menores y así se conservan hasta los 60 días.

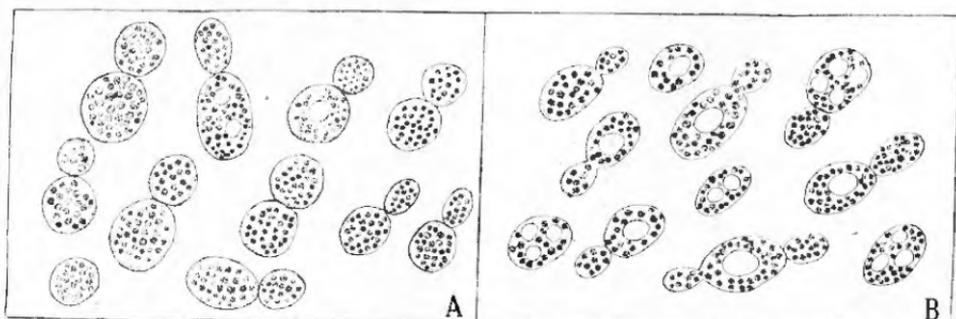


Fig. 8.—Aspecto que muestran las células de *Torulopsis aquamellis*.—A.—Mosto de cerveza (48 horas); B.—Mosto gelosado (3 días). (Prep. y dib. de M. Ruiz O.)

Aquamiel simple

Temperatura: 24° — 25° C.

Edad del cultivo: 3 días.

Todos los caracteres observados en este cultivo son completamente semejantes a los anotados con respecto a los cultivos de mosto simple y si acaso, se encuentra una diferencia muy ligera que consiste en que existen mayor número de formas elípticas.

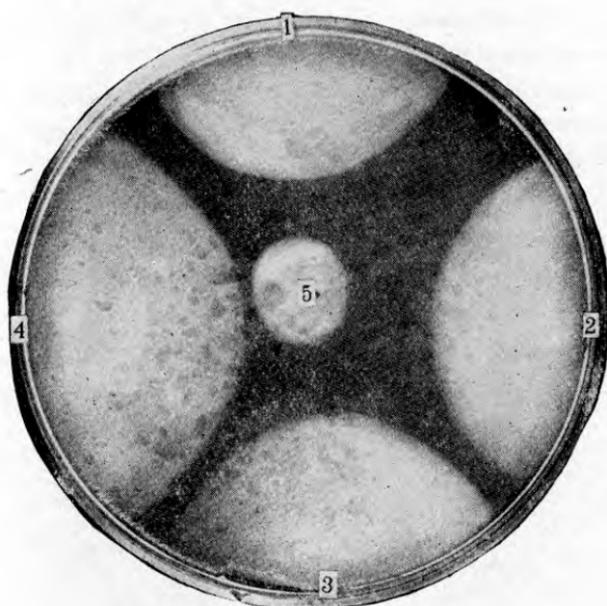


Fig. 9.—Auxanograma de la asimilación de substancias nitrogenadas: 1.—Sulfato de amonio; 2.—Asparagina; 3.—Urea; 4.—Nitrato de potasio; 5.—Peptona. (Prep. de M. Ruiz O.; Fot. I. Larios).

Mosto gelosado

Temperatura: 24° — 25° C.

Edad del cultivo: 48 horas.

Forma de las células: la gran mayoría son ovales, muy pocas esféricas; de los 10 días en adelante predomina la forma esférica.

Agrupamiento: las células se conservan aisladas durante todo el tiempo que dura el cultivo.

Brotos: la gran mayoría de las células tienen un solo brote; de los 10 días en adelante, pocas tienen brotes.

Citoplasma: es obscuro y muy granuloso, conservándose así durante todo el tiempo que se obtuvo vivo el cultivo.

Vacuolas: la mayor parte de las células poseen una vacuola grande de contenido poco distinto al citoplasma; muy pocas poseen dos y tres vacuolas; a los 10 días en muy pocas células se notan 4 vacuolas.

Grasa: existen numerosos glóbulos muy pequeños, aunque son menos abundantes que en los medios anteriores; de los 10 días en adelante se hacen más numerosos.

Gránulos metacromáticos: son muy poco abundantes.

Ascas y ascosporas: no se forman.

Dimensiones: la mayoría de las formas ovales tienen: (5-6) por (6.5-6.5) micras; algunas de (4-5) por (5-7) y de (6-8) por (7-10) micras. Las esféricas (5-6) por (5-6) y (7-8) por (7-8) micras.

CARACTERES MICROSCOPICOS DE LAS CELULAS

	Aguamiel gelosado.	Mosto gelatinado.	Aguamiel gelatinado.
Temperatura.	24°-25° C.	18°-19° C.	18°-19° C.
Edad del cultivo.	3 días.	5 días.	7 días.
Forma de las células.	La mayoría ovales, pocas esféricas; a los 10 días predominan estas últimas.	Ovales y esféricas; a los 10 días predominan estas últimas.	Semejante a las observadas en mosto gelatinado.
Agrupamiento.	Aisladas.	Aisladas.	Aisladas.
Brotos.	Pocas con un brote en la extremidad.	Pocas con un solo brote.	Pocas con un solo brote.
Citoplasma.	Granuloso y obscuro.	Granuloso y obscuro.	Granuloso y obscuro.
Vacuolas.	En muy pocas células una o dos vacuolas grandes que después se hacen pequeñas.	La mayoría de las células una sola vacuola pequeña o grande; pocas células con 2, 3 y 4 vacuolas pequeñas.	En muy pocas células una o varias vacuolas, poco distintas.
Grasa.	Muy numerosos y pequeños glóbulos.	Numerosos y pequeños glóbulos.	Pocos glóbulos, aunque de grandes dimensiones; a los 15 días son pequeños y muy numerosos.
Gránulos metacromáticos.	Pocos.	Pocos.	Pocos.
Ascas y ascosporas.	No se forman.	No se forman.	No se forman.
Dimensiones.	(5-6) por (6.5-6.5) micras. (4-5) por (5-4) micras. (5-6) por (5-6) micras. (7-8) por (7-8) micras.	Semejantes a las observadas en aguamiel gelosado.	Semejantes a las observadas en aguamiel gelosado.

CARACTERES MICROSCOPICOS DE LAS CELULAS

	Gelatina.	Fragmentos de patata.	Fragmentos de zanahoria.
Temperatura.	18°-19° C.	24°-25° C.	24°-25° C.
Edad del cultivo.	5 días.	4 días.	6 días.
Forma de las células.	Ovales y esféricas; a los 15 días predominan estas últimas.	Ovales y algunas esféricas; a los 10 días predominan estas últimas.	Ovales y pocas esféricas; a los 10 días predominan estas últimas.
Agrupamiento.	Aisladas.	Aisladas.	Aisladas.
Brotos.	Pocas células con un solo brote.	Pocas células con un solo brote.	Pocas células con un solo brote.
Citoplasma.	Granuloso y oscuro.	Granuloso y oscuro.	Granuloso y oscuro.
Vacuolas.	En muy pocas células se observan vacuolas que apenas se distinguen. A los 15 días la mayoría tienen una vacuola y algunas con 1, 3, 5 y hasta 10 vacuolas muy pequeñas.	Gran número de células tienen una o varias vacuolas pequeñas. A los 15 días muy pocas células las poseen.	En pocas células se notan una o varias vacuolas.
Grasa.	Numerosos y pequeños glóbulos.	Varios glóbulos muy pequeños, pocos son grandes. A los 15 días se hacen muy numerosos.	Muy pocos glóbulos y pequeños. A los 15 días son muy numerosos.
Gránulos metacromáticos.	Pocos.	Pocos; a los 10 días no se observan.	Pocos; a los 15 días no se observan.
Ascas y ascosporas.	No se forman.	No se forman.	No se forman.
Dimensiones.	(5-6) por (5-6) micras. (7-8) por (7-8) micras.	(6-6.5) por (6.5-7) micras. (5.5-6) por (6-7) micras. (6-8) por (6-7) micras.	(5.5-6) por (7-7) micras. (4.5-5) por (5-6) micras. (5-6) por (6-7) micras.

TEMPERATURAS LIMITES Y OPTIMA DEL CRECIMIENTO

Brote

Las experiencias se efectuaron en tubos con mosto y aguamiel gelosados.

Temperatura mínima:

- 0°— 2° C.: a las 24, 48 y 72 horas no se nota el desarrollo del cultivo, pero a los 5 días se observan pequeñas colonias.
- 2°— 4° C.: a las 48 horas se forman pequeñísimas colonias.
- 4°— 6° C.: a las 24 horas se desarrollan colonias muy pequeñas.

Temperatura óptima:

- 24°—26° C.: a las 24 horas los cultivos obtenidos tienen mayor desarrollo que los observados a otras temperaturas (20°—22°—28°—30°—32° C.)

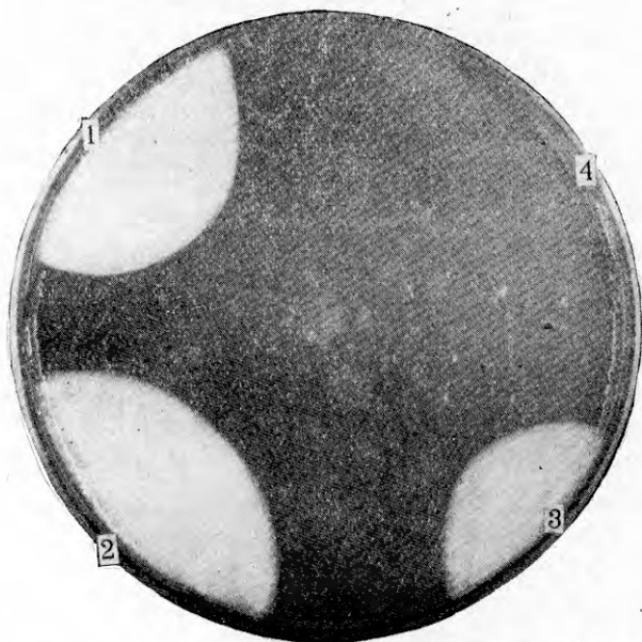


Fig. 10.—Auxanograma de la asimilación de azúcares: 1.—Dextrosa; 2.—Levulosa; 3.—Manosa; 4.—Galactosa (no fué asimilada). (Prep. de M. Ruiz O.; Fot. I. Larios).

Temperatura máxima:

29°—31° C.: a las 12 horas se forman pequeñas colonias.

31°—33° C.: hasta las 48 horas se forman pequeñas colonias.

33°—35° C.: hasta las 12 horas se forman pequeñas colonias.

35°—37° C.: no se obtiene desarrollo.

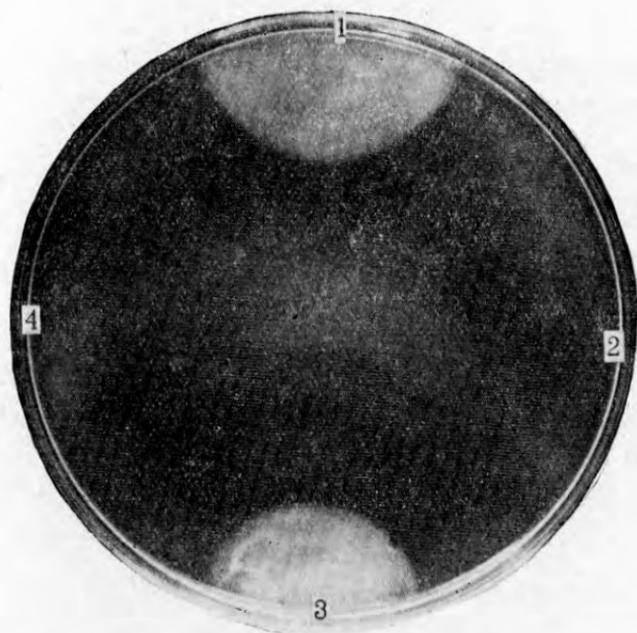


Fig. 11.—Auxanograma de la asimilación de azúcares:
1.—Sacarosa; 2.—Lactosa (no fué asimilada); 3.—Maltosa;
4.—Rafinosa (no fué asimilada). (Prep. de M. Ruiz O.;
Fot. I. Larios).

CARACTERES BIOQUIMICOS

Licuefacción de gelatina: en mosto y aguamiel gelatinados se inicia la licuefacción a los 15 días, a los 30 días es muy intensa y a los 45 días es completa. En medio de gelatina pura, la licuefacción es menos intensa: se inicia a los 30 días y es completa hasta los 75 días.

Fermentación: Resultados completamente negativos con todos los azúcares empleados: dextrosa, levulosa, manosa, galactosa, lactosa, sacarosa y maltosa.

Asimilación del nitrógeno (según método auxanográfico de Beijerinck):

Nitrato de potasio	+	Peptona	+
Sulfato de amonio	+	Asparagina	+
Urea	+		

Asimilación de los azúcares (según método auxanográfico de Beijerinck):

Dextrosa	+	Levulosa	+
Manosa	+	Galactosa	—
Sacarosa	+	Maltosa	+
Lactosa	—	Rafinosa	—

Alcohol etílico como sustrato de crecimiento: a los 10 días el desarrollo es muy raquítrico; a los 30 días alcanza un crecimiento regular. Se asimila el alcohol etílico, pero en pequeña proporción y de manera lenta.

CLASIFICACION

Por sus células redondas, ovales y elípticas, formación de sedimento, anillo y con el tiempo islotes de velo, asimilación de nitrato de potasio, peptona, asparagina, sulfato de amonio y urea, asimilación de dextrosa, levulosa y manosa, colocamos esta levadura en el género **Torulopsis**.

Por sus caracteres específicos creemos, después de consultar toda la bibliografía posible, que se trata de una nueva especie, para la cual proponemos el nombre de **aquamellis**, debido a que fué aislada del aguamiel del maguey pulquero que se emplea, en México, para elaborar la bebida alcohólica llamada pulque.

SUMMARY

The description of a new species of yeast, forming no spores, is given in this paper. We place it in the genus **Torulopsis** and consider it a new species because of its characters, under the name **aquamellis**, because it was found in the "aguamiel", liquid produced by the "maguey" (**Agave**) used in Mexico for the elaboration of the fermented alcoholic beverage called "pulque".

The fundamental characters of this new species are the following:

1. **Culture in beer-worth:** At 24°-25° C., little sediment appears after 48 hours; after 9 days a ring is formed and in 20 days isolated spots of veil appear, which after 30 days cover the whole surface of the culture; in 45 to 60 days a mucous veil is formed. After 48 hours at the above mentioned temperature some cells are round (6-7) micra in diameter and others ovoid (6-7 by 7-8) micra. In some, vacuoles are to be seen and in all of them numerous very small fat droplets.
2. **Culture in wort-agar:** At 24°-25° C., after 10 days circular colonies are obtained, with smooth surface and some radial very thin grooves; elevation convex or pulvinate; borders entire and dark brown in colour with a reniform shiny aspect. After 60 the surface becomes very rugose, borders undulated, the shine is lost and the brown colour darker.
3. **Streak culture:** In wort-ager, after 30 days at 25° C., the form is extended, surface rugose at the middle and even near the borders which are undulated; convex elevation; not translucent, dark brown and uniformly shiny.
4. **Giant colony:** In wort-gelatin after 30 days at 18°-19° C., appears with circular form, even surface, umbonate elevation, entire borders, not translucent, very shiny and yellowish-brown in colour.

5. **Limit and optimum temperatures for development are:**

Minimum temp.: 0°-2° C.

Optimum temp.: 24°-26° C.

Maximum temp.: 33°-35° C.

6. **Liquefaction of gelatin:** Begins between 15 and 30 days and is greater after 45 to 60 days.
7. **Fermentation:** Does not ferment any sugars.

8. **Assimilation of sugars:**

Dextrose	+	Levulose	+
Manose	+	Galactose	—
Saccharose	+	Maltose	+
Lactose	—	Raffinose	—

9. **Assimilation of Nitrogen:**

Potassium nitrate	+	Peptone	+
Amonium sulphate	+	Asparagine	+
Urea	+		

10. **Ethyl alcohol as substratum for development;** very little after 10 days; moderate after 30.

BIBLIOGRAFIA

BOULARD, H.—Etudes et recherches sur les levures.—Paris, 1915.

CARBAJAL, ANTONIO J.—Estudio sobre el pulque, considerado principalmente desde el punto de vista zimotécnico.—Boletín de la Sociedad Agrícola Mexicana.—Tomo XXV, Núm. 33.—México, 1901.

La fermentación racional del pulque.—Revista de la Sociedad "Antonio Alzate".—T. 32.—México, 1912.

GAVIÑO, A.—Estudio higiénico-bacteriológico del Pulque.—Revista Quincenal de Anatomía, Patología y Clínica Médica y Quirúrgica.—T. I.—México, 1896.

Microorganismos del pulque. (Dibujos).—Boletín del Instituto Patológico.—T. I.—México, 1901.

GLAUBITZ, M.—Atlas des Organismes de Fermentations.—París, 1936.

GUILLIERMOND, A.—Recherches cytologiques sur les levures et quelques moisissures a formes des levures.—París, 1902.

Levaduras del Pulque.—Boletín de la Dirección de Estudios Biológicos.—Tomo II. Núm. 1.—México, 1917.

The Yeasts.—New York, 1920.

Clef dichotomique pour la détermination des Levures.—París, 1928.

La sexualité, le cycle de développement, la phylogénie et la classification des levures.—París, 1937.

HENRICI, A. T.—Molds, yeasts and actinomycetes.—New York, 1930.

LANGERON, M. y GUERRA, P.—Nouvelles recherches de zymologie médicale.—Annales de Parasitologie Humaine et Comparée.—T. XVI, 1938.

LEVI, L.—Microbes et distillerie.—París, 1900.

LODDER, J.—Die anaskosporogenen hefen. "Centraalbureau voor Schimmelcultures".—Amsterdam, 1934.