

CONTRIBUCION AL CONOCIMIENTO DE LAS LEVADURAS DEL AGUAMIEL Y DEL PULQUE

Por MANUEL RUIZ O.,
del Instituto de Biología.

RHODOTORULA INCARNATA n. sp.

La levadura cuyo estudio presentamos en este trabajo, y que posee principalmente un color encarnado, la hemos aislado varias veces en siembras que periódicamente se han efectuado del aguamiel y del pulque. Creemos que este microorganismo no es siempre constante en el aguamiel, pues en varias siembras de este líquido, no se ha encontrado; en cambio, en el pulque, su presencia es más constante, ya que con regularidad aparece siempre en los cultivos que se hacen de esta bebida.

Seguramente esta levadura es la misma que aisló en 1901 el Dr. Carbajal, y a la cual denominó **Torula rosada**, pero de ella nos indica el citado autor, que no pudo efectuar ningún estudio debido a que se contaminaron los cultivos.

Purificación de los cultivos: por medio de cultivos sucesivos en mosto y aguamiel líquidos, adicionados de ácido láctico.

Aislamiento de la cepa pura: por medio del método de "pequeñas gotitas" de Lindner en mosto y aguamiel líquidos.

CARACTERES MACROSCOPICOS DE LOS CULTIVOS EN MEDIOS LIQUIDOS

Mosto de cerveza

Temperatura: 25° C.

Velo: a los 13 días se notan pequeñísimos islotes de velo sobre la superficie del medio, los cuales apenas se observan a simple vista

y son de color carne. A los 20 días los islotes son más grandes, se han unido, y se forma un velo incompleto, mucoso, brillante y de color rojizo muy débil. A los 30 días este velo incompleto se desintegra y sólo vuelven a quedar algunos islotes muy pequeños que después terminan por desaparecer.

Anillo: a los 10 días se inicia la formación de un anillo cuyo desarrollo es completo a los 15 días; este anillo es muy delgado, fino, opalescente y de color levemente encarnado o salmón. Entre los 20 y 30 días el color es más vivo, apareciendo como rojo zanahoria o rojo coral. Conforme se evapora el medio, el anillo se va notando más ancho y vuelve a tomar su color primitivo; después de 4 ó 5 meses adquiere un tinte moreno; sin perder su tono ligeramente rojizo.

Depósito: es lo primero que se forma, pero solamente hasta los 4 días en que aparece tan pequeño que apenas es visible a simple vista e incoloro. A los pocos días, y conforme aumenta su desarrollo, va tomando un ligero tinte rojizo, que se estabiliza definitivamente en color carne. A los 60 ó 90 días, el depósito es muy abundante y sólo su parte superior se conserva encarnada, pues la parte baja se torna de color moreno oscuro.

Fermentación: no se observa.

Enturbiamiento: No se observa; el medio se conserva siempre limpio y transparente.

Aguamiel simple

Temperatura: 25° C.

Velo: en ningún caso se integra un velo y solamente entre los 50 y 60 días se forman algunos islotes muy pequeños y de color levemente encarnado.

Anillo: entre los 20 y 30 días se inicia la formación de un anillo que no llega a ser completo en ningún caso y solamente queda integrado por numerosos islotes que se fijan a las paredes del tubo; este anillo incompleto tiene el mismo color de los islotes de velo.

Depósito: su desarrollo es muy raquítico en comparación del obtenido en mosto de cerveza.

Fermentación: no se observa.

CARACTERES MACROSCOPICOS DE LOS CULTIVOS
EN MEDIOS SOLIDOS

Mosto gelosado

Temperatura: 25° C.

Edad del cultivo: 12 días.

Forma: perfectamente circular.

Superficie: lisa; en la periferia se forman estrías radiales apenas visibles a simple vista y que después van desapareciendo.

Elevación: convexa; después de 20 días se torna claramente pulvinada.

Bordes: enteros.

Color: rosáceo encarnado o salmón pálido; a los 3 ó 5 meses se torna de color carne pálido.

Caracteres ópticos: opaco.

Brillo: intenso.

Consistencia: viscosa o mucilaginosa.

Acción sobre el medio: ninguna.

Dimensiones: 12 mm. d.

Aguamiel gelosado

Temperatura: 25° C.

Edad del cultivo: 12 días.

Forma: circular.

Superficie: lisa; se notan algunas estrías radiales en la superficie, las cuales después de 20 días tienden a desaparecer.

Elevación: levemente convexa.

Bordes: enteros.

Color: rosáceo encarnado; así se conserva durante mucho tiempo, después del cual se estabiliza en un color encarnado pálido.

Brillo: regular.

Consistencia: viscosa.

Acción sobre el medio: ninguna.

Dimensiones: 9 mm. d.

Mosto gelatinado

Temperatura: 13°-15° C.

Edad del cultivo: 12 días.

Forma: circular.

Superficie: finamente estriada; las estrías son radiales y apenas se notan a simple vista.

Elevación: extendida; pronto se hace infundibuliforme ya que se hunde en el medio de cultivo.

Bordes: enteros.

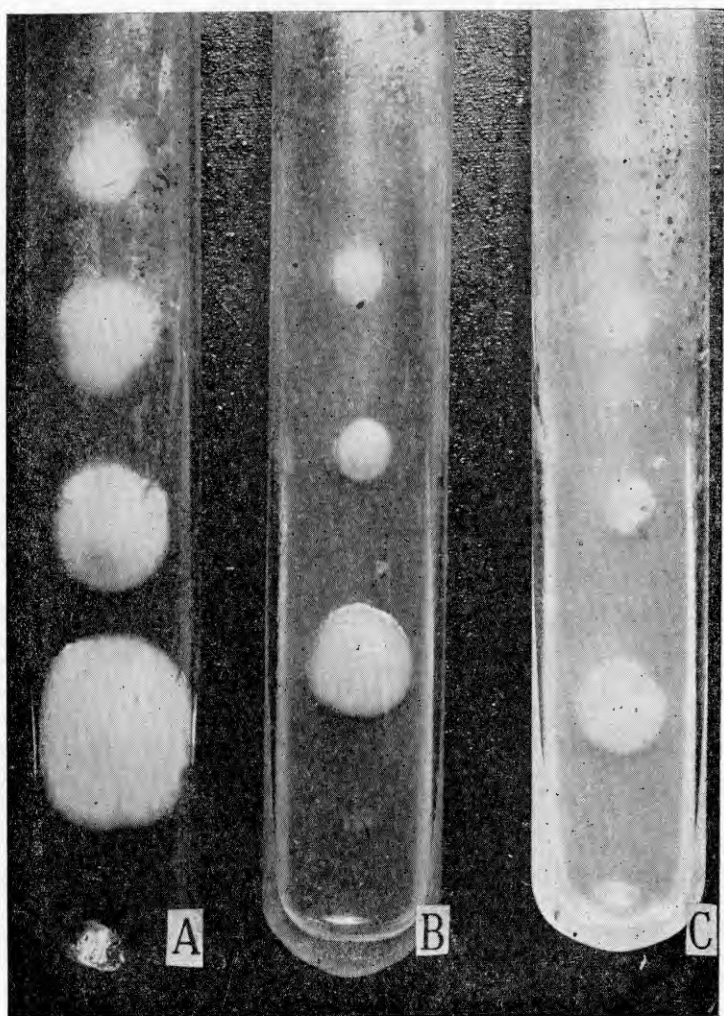


Fig. 1.—Cultivos en placa de *Rhodotorula incarnata* (20 días). A.—Mesto gelosado; B.—Aguamiel gelosado; C.—Geroakowa gelosado.

Color: encarnado o salmón pálido; en la periferia el tinte es más débil.

Caracteres ópticos: opalescente.

Brillo: intenso.

Consistencia: en los primeros días es levemente membranosa, pero pronto es claramente viscosa.

Acción sobre el medio: se inicia una ligera licuefacción que de los 20 a 30 días es muy intensa.

Dimensiones: 5 mm. d.

Aunque la licuefacción se inicia a los 12 días, no es completa sino después de los 30 ó 40 días. A los 60 días en el medio completamente licuado se nota un depósito muy abundante de color carne vivo y numerosas colonias flotando en el mismo. En la superficie se forma un velo mucoso, brillante, grueso y de color salmón, así como un anillo completo, espeso, opaco y del mismo color.

En aguamiel gelatina se muestran los mismos caracteres que en el medio anterior, a excepción de los siguientes: los bordes son finamente ondulados o aserrados, el color es menos intenso y son las colonias transparentes. Entre los 20 y 30 días la licuefacción es completa, se forma un depósito muy abundante y un anillo delgado, fino y transparente; no se integran velo ni islotes.

En gelatina las colonias son opalescentes, de bordes ondulados, brillo muy intenso y a los 20 días la licuefacción de la gelatina en el sitio en que está el cultivo, es completa.

En medio de Gorodkowa gelosado el color es rojo zanahoria o rojo coral, pero después de los 40 días el tono se empieza a hacer más pálido, empezando por la periferia y siguiendo hacia el centro; de esta manera y después de los 80 días, los cultivos pierden completamente su tinte, se tornan primero grisáceos y por último quedan completamente blancos. Sin embargo, hay que citar el hecho muy interesante de que si estos cultivos que han perdido su color, se inoculan a un nuevo medio de cultivo, vuelven a tomar su color primitivo. Probablemente la desaparición del tinte se debe a la pobreza del medio en sustancias nutritivas, pues en los demás medios no se llega a perder, aunque en todos ellos, después de 5 a 6 meses las colonias se van tornando de color moreno, pero siempre conservan sitios que poseen su color primitivo; esto se debe indudablemente a la desecación de los medios de cultivo y a la vejez de las colonias.

En fragmentos de zanahorias es donde los cultivos alcanzan el desarrollo más rápido e intenso; en pocos días los cultivos están bastante grandes siendo la diferencia en este sentido muy notable con

respecto a los demás medios utilizados. Asimismo, el brillo y el tinte rojizo son muy vivos; adoptan un color rojo zanahoria o rojo coral muy intensos, el cual se conserva hasta después de los 60 días.

Algo semejante a lo anotado en el medio anterior se observa en fragmentos de patata, pero tanto el color, como el brillo y desarrollo son menos intensos.

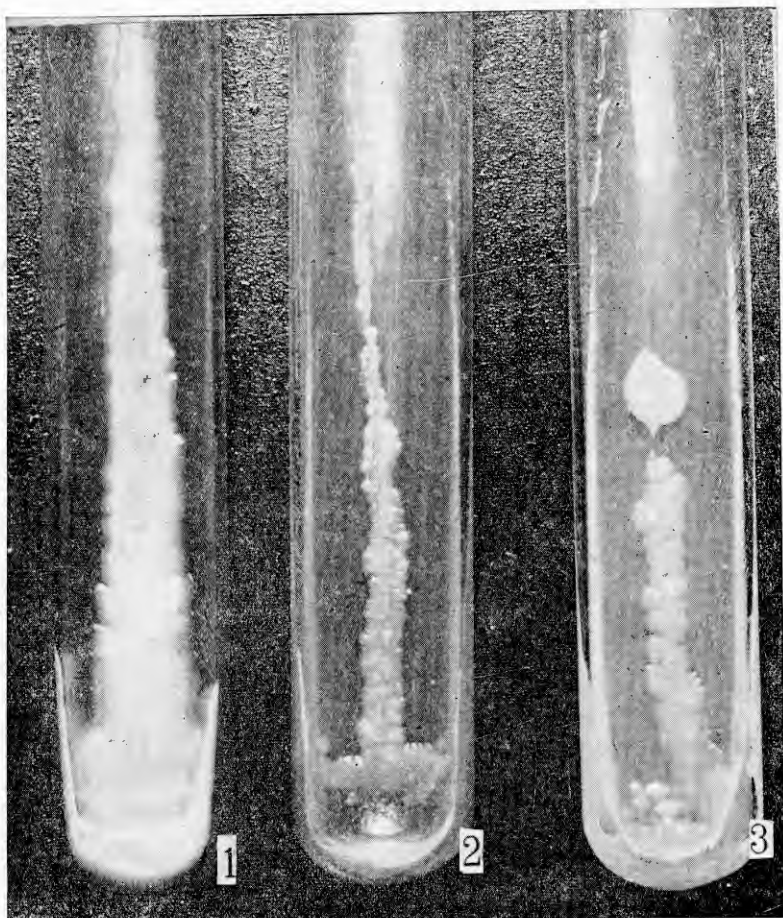


Fig. 2.—Cultivos en estría de *Rhodotorula incarnata* (20 días). 1.—Mosto gelosado; 2.—Aguamiel gelosado; 3.—Gorodkowa.

CULTIVOS EN ESTRIA

Mosto gelosado

Temperatura: 25° C.

Edad del cultivo: 15 días.

Forma: equinulada; en la base el cultivo se extiende por todo el tubo.

Superficie: levemente rugosa; se forman estrías poco profundas y más o menos paralelas que se disponen de la periferia hacia la parte media del cultivo.

Elevación: convexa.

Bordes: ondulados.

Color: encarnado; en ciertos sitios, especialmente en la periferia, el color es más pálido.

Brillo: intenso.

Consistencia: viscosa.

Mosto gelatinado

Temperatura: 16°-18° C.

Edad del cultivo: 10 días.

Forma: filiforme.

Superficie: levemente rugosa, pues está cruzada por numerosas y finas estrías.

Elevación: extendida, aunque se comienza a tornar infundibuliforme pues se hunde en el medio.

Bordes: finamente ondulados o dentados.

Color: encarnado pálido.

Brillo: al principio es poco, pero al iniciarse la licuefacción se hace muy intenso.

Acción sobre el medio: se inicia la licuefacción y las colonias pierden sus caracteres; entre los 20 y 30 días la licuefacción es completa.

En aguamiel gelatinado y en gelatina pura, los caracteres son más o menos semejantes a los citados con respecto al medio anterior.

En fragmentos de zanahoria y de patata, los cultivos adquieren un desarrollo muy intenso, pues en pocos días se extienden varios milímetros a ambos lados de la línea de inoculación y llegan a cubrir toda la superficie del fragmento.

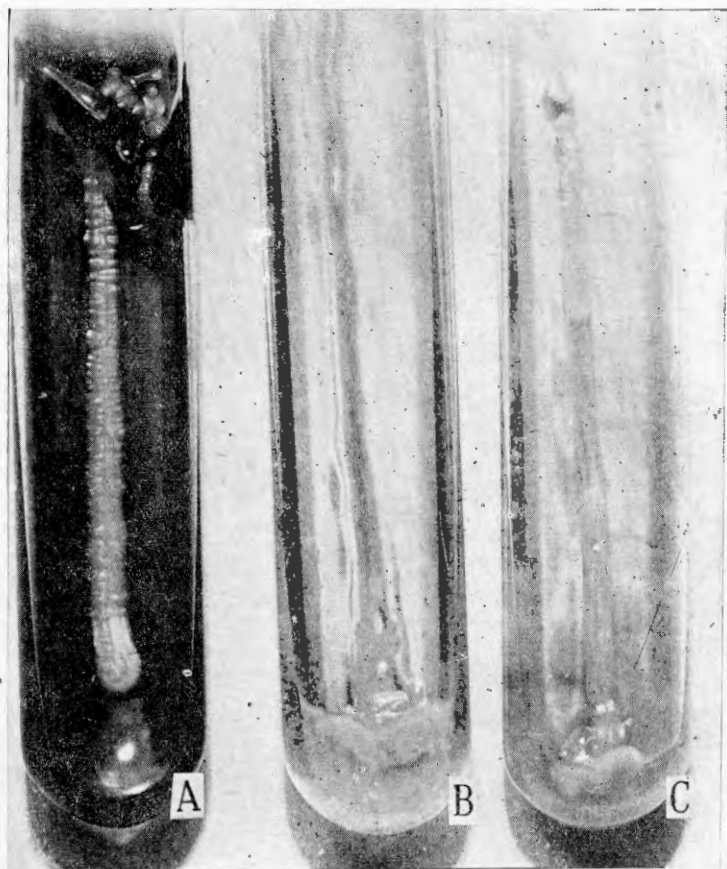


Fig. 3.—Cultivos en estría en medios gelatinados (12 días). A.—Mosto gelatinado; B.—Aguamiel gelatinado; C.—Gelatina. En los dos últimos el medio ya se ha licuado a lo largo de la estría y el cultivo se ha acumulado en el fondo del tubo.

CULTIVOS EN PICADURA

Temperatura: 16°-18° C.

Edad de los cultivos: 20 días.

Mosto gelosado

Forma del crecimiento: filiforme.

Caracteres ópticos: opaco.

Color: debido al color propio del medio y a su poca transparencia, no se nota el color del cultivo a lo largo del piquete, pero en la parte superficial así como en el anillo que se forma en el tubo se muestra un hermoso color rojo coral pálido muy brillante.

Desarrollo: hasta los 6 ó 7 días se nota el crecimiento a lo largo del piquete y aún a los 40 días es muy raquítrico. En cambio, en la superficie, el desarrollo es muy intenso y hasta se forma un perfecto anillo como no se obtiene en ninguno de los medios líquidos.

Mosto gelatinado

Forma del crecimiento: finamente filiforme; en su parte inferior el desarrollo es tan escaso que apenas es visible a simple vista.

Caracteres ópticos: transparente.

Acción sobre el medio: licuefacción en la parte superior.

Color: débilmente encarnado a lo largo del piquete; en la superficie el color es más intenso.

Desarrollo: el desarrollo es sumamente raquítrico tanto a la largo del piquete como en la superficie.

En aguamiel gelatina el crecimiento es veloso en la parte inferior; la superior se ensancha y se hunde en el medio debido a la licuefacción; entonces la superficie se hace infundibuliforme. El desarrollo es muy raquítrico.

En gelatina la forma del crecimiento es filiforme, tirando a vellosa, pero muy leve, en la parte inferior; la licuefacción se inicia por la parte superior.

En medio de Gorodkowa gelosado, el crecimiento es moniliforme o arrosariado, bastante amplio en la parte superior.

CARACTERES DE LAS COLONIAS GIGANTES

Mosto gelosado

Temperatura: 14°-16° C.

Edad: 40 días.

Forma: circular.

Superficie: casi lisa; se forman pequeñísimas granulaciones y escasas estrías radiales muy finas de la periferia al centro.

Elevación: convexa.

Color: encarnado.

Caracteres ópticos: opaca.

Bordes: enteros.

Brillo: intenso.

Consistencia: viscosa.

Dimensiones: 30 mm. d.

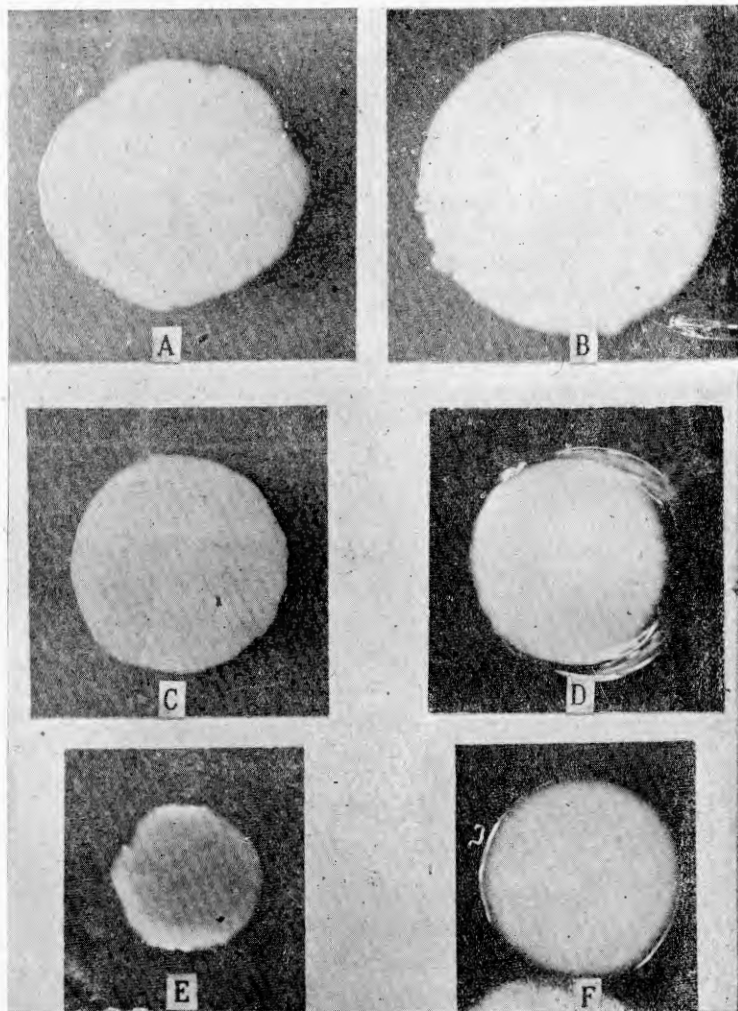


Fig. 4.—Colonias gigantes de *Rhodotorula incarnata*. A.—Aguamiel gelosado (40 días); B.—Mosto gelosado (40 días); C.—Gorodkova gelosado (30 días); D.—Mosto gelatinado (25 días). (Alrededor de la colonia se nota el medio ya licuado; E.—Fragmento de zanahoria (10 días); F.—Mosto gelosado (15 días).

Aguamiel gelosado

Temperatura: 14°-16° C.

Edad: 40 días.

Forma: circular, aunque no es perfecta, pues se forman lóbulos en la periferia aunque poco profundos.

Superficie: granulosa en su mayor parte y sólo una delgada faja periférica es lisa.

Elevación: plana.

Bordes: enteros o levemente ondulados.

Color: encarnado con un leve tinte moreno.

Caracteres ópticos: opaco.

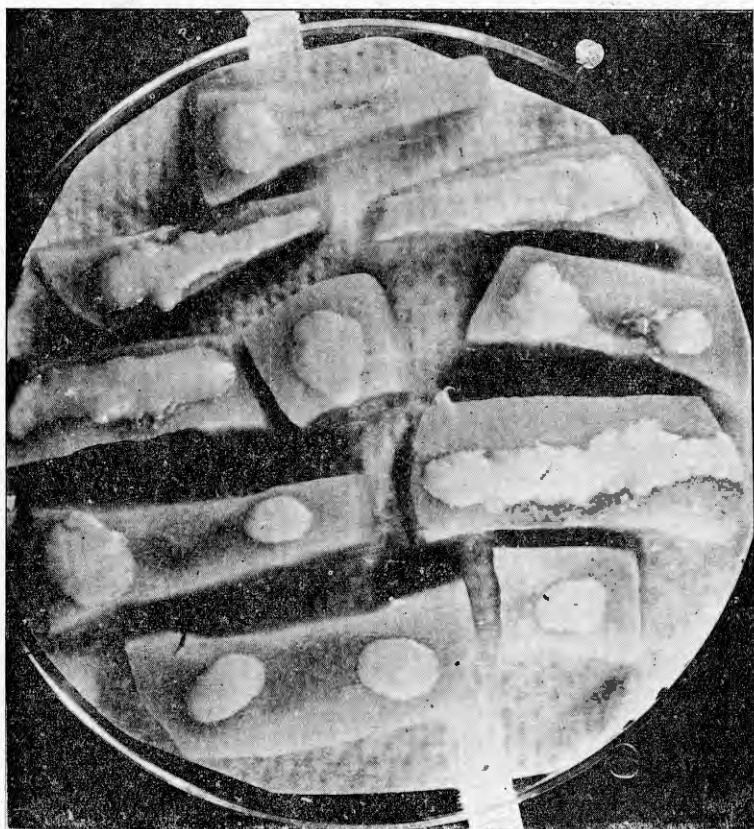


Fig. 5.—Colonias en placa y en estría de *Rhodotorula incarnata* en fragmentos de zanahoria (12 días).

Brillo: escaso.

Consistencia: poco viscosa o mucilagínosa.

Dimensiones: 17 mm. d.

En mosto gelatinado, aguamiel gelatinado y gelatina no se llegan a obtener colonias gigantes debido a que pronto se inicia la liuefacción.

CARACTERES MICROSCOPICOS DE LAS CELULAS

Mosto de cerveza

Temperatura: 25° C.

Edad del cultivo: 3 días.

Forma de las células: principalmente ovales, algunas pequeñas son esféricas, muy pocas alargadas y de formas irregulares. Entre los 40 y 60 días aparecen formas irregulares con una o varias prolongaciones protoplásmicas, semejantes a las que emiten las levaduras que van a conjugarse; otras células son extremadamente alargadas y delgadas.

Agrupamiento: aisladas; algunas en cadenas de 3 a 5 células; en la misma forma se conservan mucho tiempo.

Citoplasma: oscuro y granuloso en la mayoría.

Brote: en la mayor parte un solo brote, en algunas dos brotes bipolares y en muy pocas varios brotes (3 a 4) en corona.

Vacuolas: en muy contadas células se notan vacuolas durante todo el tiempo que dura el cultivo.

Grasa: casi todas las células contienen varios glóbulos pequeños y sólo algunas poseen uno o dos grandes. A los 30 días la gran mayoría de las células contienen un solo glóbulo de grasa que llega a ocupar casi todo el protoplasma.

Gránulos metacromáticos: en cultivos jóvenes no se identifican, pero en cultivos viejos (50 a 60 días) aparecen algunos alrededor de los glóbulos de grasa o dentro de las vacuolas cuando éstas existen.

Ascas y ascosporas: no se forman.

Dimensiones: ovales: (4-3.5) por (6-4) micras; esféricas: 2.5 a 4 micras de diámetro; muy pocas de mayores dimensiones: (4-5) por (7-7.5); (3-4.5) por (8-8.5) micras.

Mosto gelosado

Temperatura: 25° C.

Edad del cultivo: 48 horas.

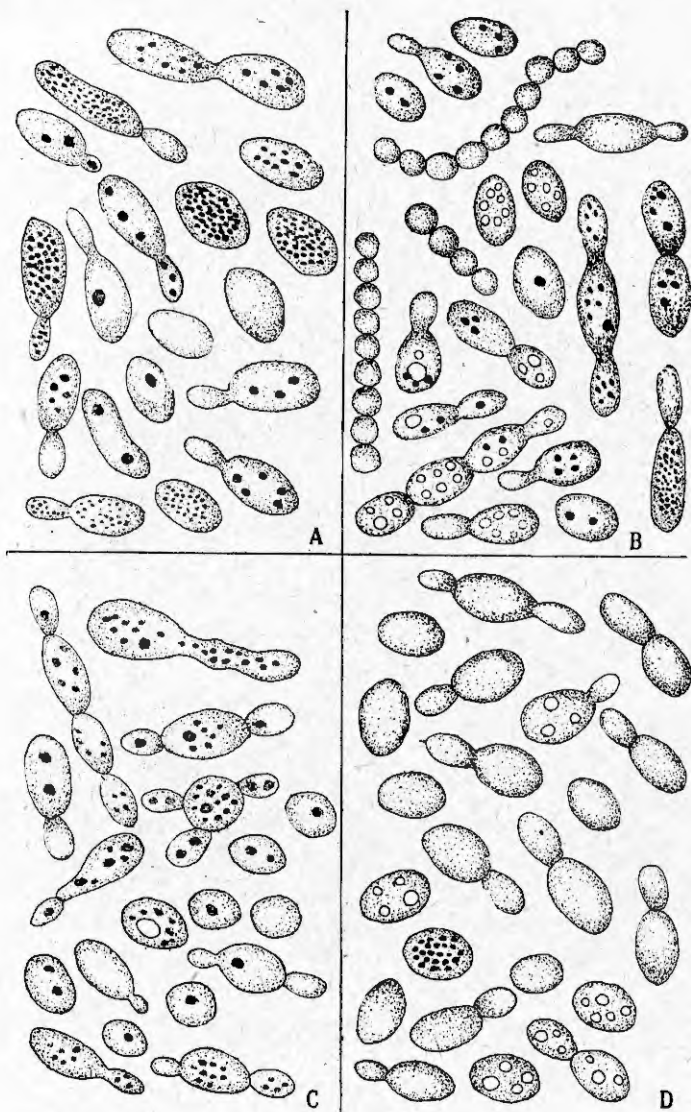


Fig. 6.—Células de *Rhodotorula incarnata* en diversos medios de cultivo. A.—Mosto gelosado (48 horas); B.—Aguamiel gelosado (3 días); C.—Mosto de cerveza (3 días); D. Mosto gelatinado (3 días).

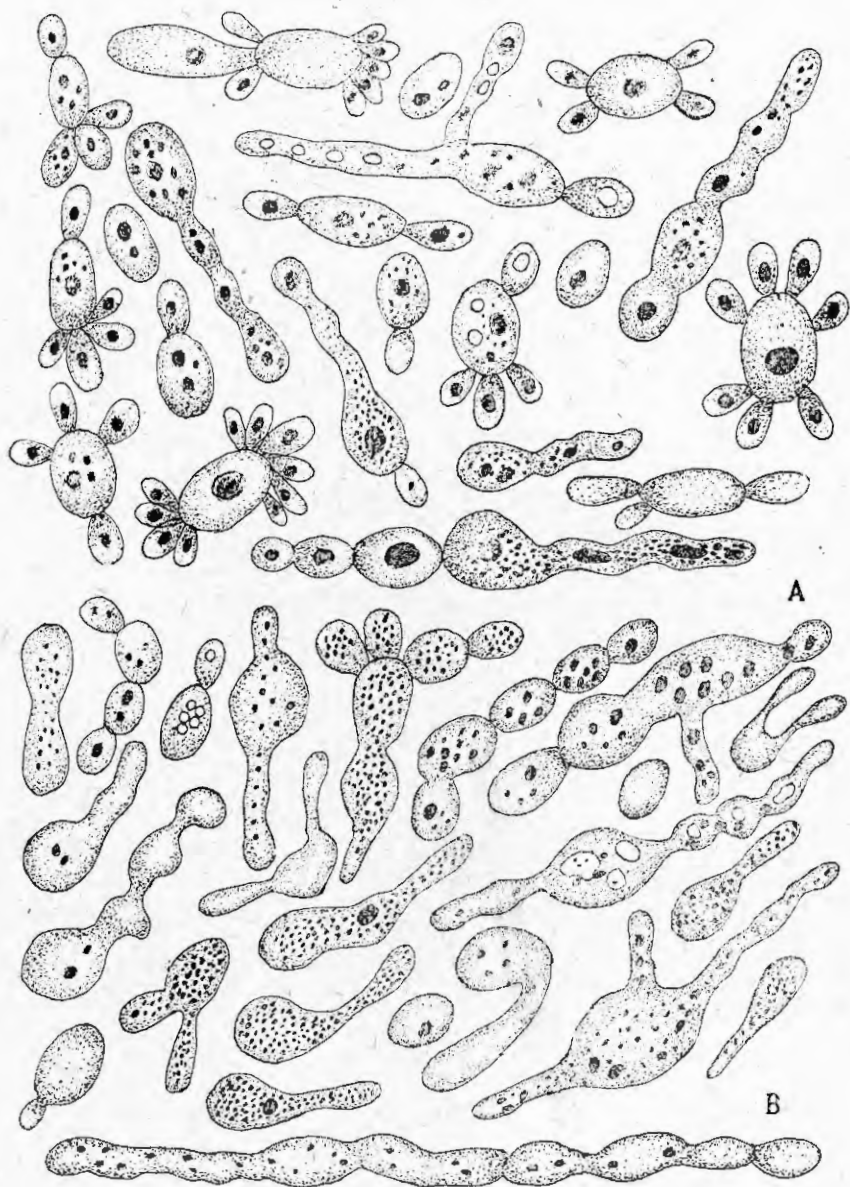


Fig. 7.—Células de *Rhodotorula incarnata* mostrando algunas de ellas varios brotes y otras sus prolongaciones semejantes a tubos de conjugación. A.—Mosto gelosado (50 días); B.—Aguamiel gelosado (15 días).

Forma de las células: esencialmente largo-ovales; después de los 10 a 15 días se tornan típicamente ovales, apareciendo algunas esféricas y alargadas; otras conservan su forma primitiva. A los 30 días, aparecen muy pocas células mostrando prolongaciones protoplásmicas como las ya citadas al hablar del mosto de cerveza.

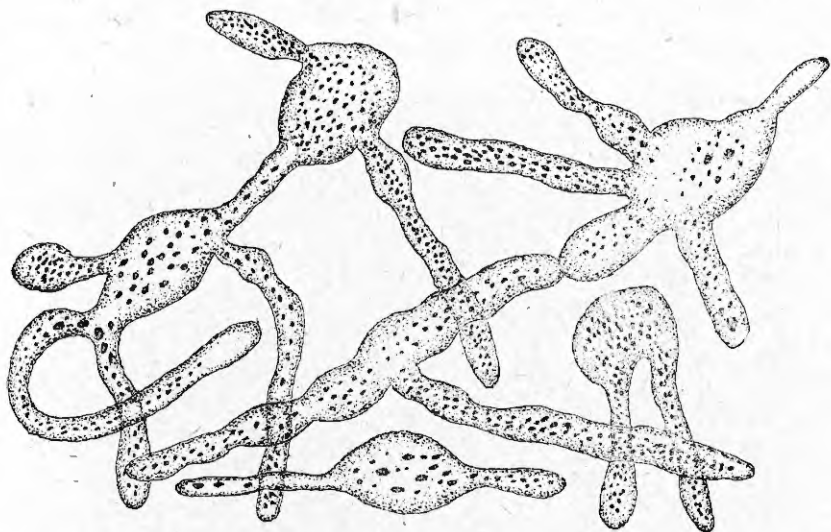


Fig. 8.—Células de *Rhodotorula incarnata* en aguamiel gelosado, mostrando su forma irregular y sus grandes prolongaciones protoplásmicas (15 días).

Agrupamiento: aisladas; después de 10 días, se nota la aparición de cortas cadenas.

Brotes: con un solo brote en un polo; a los 10 días algunas muestran brotes bipolares y en corona; el número de éstas aumentan después de los 30 días haciéndose muy abundantes entre los 40 y 60 días.

Citoplasma: en algunas células es homogéneo, claro y transparente, pero en otras es oscuro y granuloso; a las 30 días este último aspecto predomina.

Vacuolas: no se observan durante todo el tiempo que dura el cultivo.

Grasa: en algunas células 2 a 4 glóbulos pequeños; en otras existen muchos pero sumamente diminutos. Con el tiempo el número de glóbulos de grasa se va reduciendo pero van siendo de mayores dimensiones.

Gránulos metacromáticos: probablemente el aspecto granuloso de muchas células se deba a la presencia de multitud de granos metacromáticos, pero no se identificaron.

Ascas y ascosporas: no se observan.

Dimensiones: largo-ovales: (3-3.5) por (6-7) micras; (2-3) por (6-7) micras; o sea 3 a 4 micras de anchura, por 6 a 7.5 de longitud.

Ovales: 4 a 5 micras de anchura, por 5 a 6 de longitud.

Alargadas: 3 a 4 micras de anchura, por 9 a 15 de longitud.

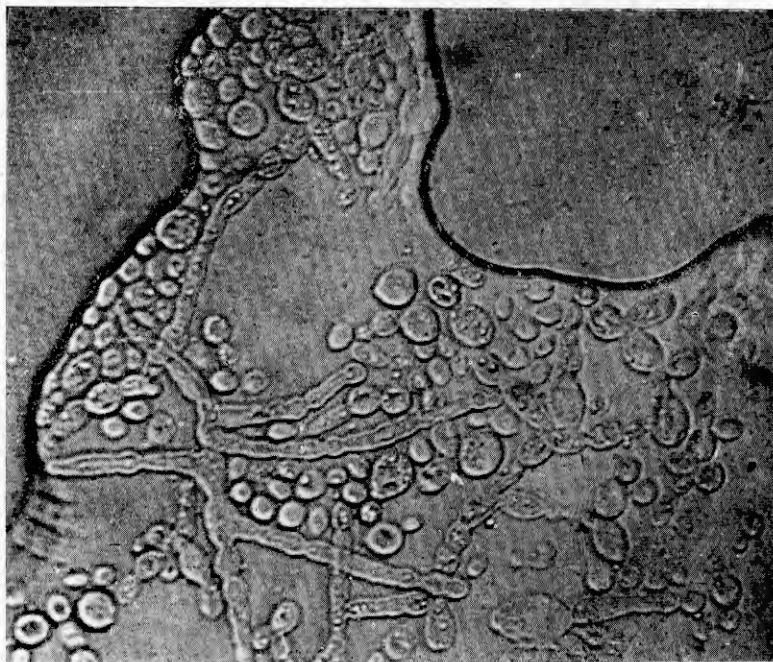


Fig. 9.—Microfotografía que muestra las células de *Rhodotorula incarnata* en aguamiel gelosado (40 días).

En aguamiel gelosado es interesante anotar, que como en ningún medio, y después de los 15 días de cultivo, las células muestran las formas más diversas y aun extravagantes: ovales, esféricas, largo-ovales, en huevo, alargadas, en salchicha, amiboides, muy irregulares mostrando una o varias prolongaciones protoplásmicas en los polos, como si trataran de conjugarse, lo cual no se logra. Los brotes son unipolares, bipolares y varios laterales o en corona. A los 30 días llama poderosamente la atención, que las formas alargadas

y las provistas con prolongaciones, son sumamente numerosas; algunas de las primeras, forman verdaderos micelios de 15 y 20 micras de longitud y sin ningún tabique.

En mosto y aguamiel gelatinados, gelatina y Gorodkowa gelosados, se observan más o menos los mismos caracteres ya citados con ligerísimas diferencias; siempre, en todos ellos, después de los 30 días se notan, aunque en muy pequeña proporción, las formas alargadas y las que poseen prolongaciones como si fueran a conjugarse; en los únicos medios de cultivos en que estas formas y prolongaciones jamás se observan en ninguna de las células, son los fragmentos de zanahoria y de patata.

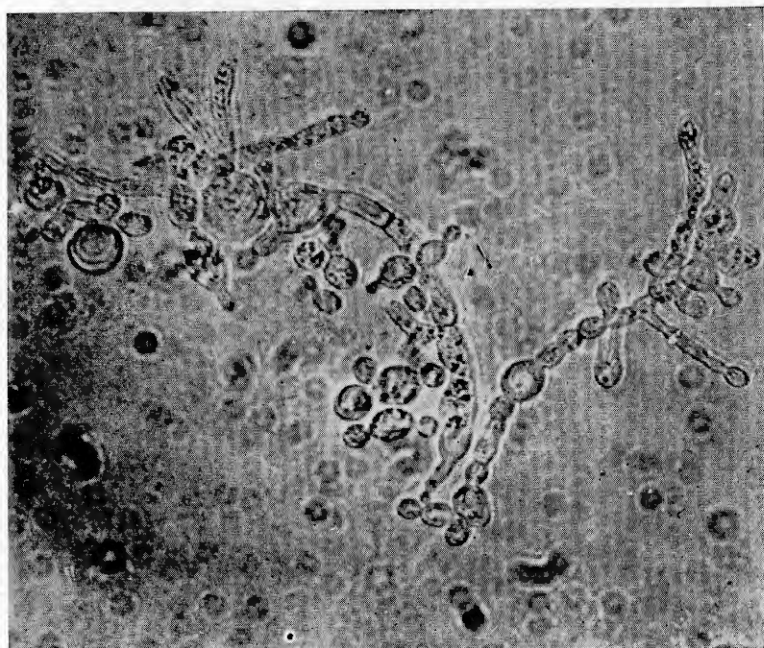


Fig. 10.—Microfotografía de las células de *Rhodotorula incarnata* en aguamiel simple (50 días).

CARACTERES BIOQUIMICOS

Licuefacción de la gelatina: completamente positiva en poco tiempo; entre los 10 y 12 días se inicia la licuefacción en todos los

medios gelatinados; a los 20 días la licuefacción es muy intensa y después de los 30 días es completa, quedando los medios totalmente líquidos.

Fermentación: resultados completamente negativos con todos los azúcares empleados.

Elección de los azúcares

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

Asimilación del nitrógeno

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

Alcohol etílico como sustrato de crecimiento: el desarrollo es sumamente raquítico aun a los 30 días; sólo se obtiene un depósito tan escaso que apenas es visible a simple vista; además, no toma tinte rojizo, quedando de un color blanquizco.

CLASIFICACION

Por el hecho de no formar ascosporas después de utilizar todos los medios posibles que se recomiendan a este respecto, queda esta levadura dentro de las levaduras anascosporógenas. Por sus células ovales, redondas y largo-ovales, sus brotes bipolares o en corona, su pigmento encarnado de naturaleza carotinoide, carencia de poder fermentativo, utilización de la dextrosa, levulosa, manosa y otros azúcares en las oxidaciones respiratorias, y asimilación por lo menos de sustancias nitrogenadas como sulfato de amonio, asparagina, urea y peptona, colocamos a esta levadura dentro del género **Rhodotorula**. Respecto a la especie, hemos revisado toda la bibliografía referente a este tema, especialmente las monografías sobre levaduras de Lodder (Die **Anaskosprogenen Hefen, Familie Rhodotorulaceae, Gattung Rhodotorula**, pág. 65) y de Ciferri y Redaelli (Monografía della **Torulopsidaceae** a pigmento rosso) y (Contribuzioni alla siste-

matica delle **Torulopsidaceae**), no habiendo ninguna especie de las descritas en estos trabajos, cuyos caracteres específicos sean los mismos que los anotados con respecto a la especie que nosotros describimos. Tomando en cuenta ésto, creemos que se trata de una nueva especie, para la cual proponemos el nombre de **incarnata**, debido a que es el color encarnado el que predomina en todos los cultivos de la misma.

Se propone entonces la creación de una nueva especie de levaduras del género **Rhodotorula** cuyos caracteres esenciales son los siguientes:

Rhodotorula incarnata, n. sp.: levadura aislada del aguamiel y del pulque que se produce en México a expensas de ciertas especies del género **Agave**; en medios líquidos forma depósito, anillo y a veces un velo mucoso y brillante integrado por islotes, las colonias en medios sólidos son de color rojo encarnado, circulares, con superficie lisa, elevación convexa, plana o pulvinada, bordes enteros, opacas, brillantes y viscosas. Las células son ovales, circulares, largo-ovales y alargadas; en ocasiones algunas de ellas emiten prolongaciones protoplásmicas como si fueran a conjugarse, pueden originar brotes unipolares, bipolares o en corona, no forman jamás ascas ni ascosporas, y por dimensiones medias tienen de 3 a 4 micras de anchura, por 4 a 7 de longitud. En pocos días (10 a 20) licúa la gelatina, carece de poder fermentativo, emplea en su respiración dextrosa (L.M.), galactosa (muy poco), sacarosa, maltosa y lactosa (muy poco); en la asimilación del nitrógeno utiliza nitrato de potasio, sulfato de amonio, peptona, asparagina y urea; el alcohol no se utiliza como fuente de crecimiento.

Rhodotorula incarnata n. sp. Fungus exceptus ex aguamiel et pulque, qui in Mexico ex **agave** quibusdam speciebus parantur; in liquidis sedimentum format, annulum, interdumque velum mucosum, nitentem, acervulis efformatum; in solidis coloniae rubro-incarnatae, orbiculares, superficie laevi, prominentia plana, convexa vel pulvinata, marginibus integris, opacis, nitidis, viscosis. Cellulae ovatae, longo-ovatae vel elongatae, interdum producciones protoplasmicas velut ad conjugationem mittentes; germinibus unipolaribus, bipolaribus vel in corona; ascis et ascosporis nullis, 3-4 micras longae, 4-7 latae. Paucis (10-20) diebus gelatinam liquefacit, fermentativam vim non habet, respirat dextrosam (L. M.) galactosam (paululam), saccharosam, maltosam et lactosam (paululam); pro assimilatione nitrogeni postulat nitratum potasicum, sulphatum amonii, peptonam, asparaginam et uream.

SUMMARY

In this paper a new species of anascosporogenous yeast is described. We put it within the genus *Rhodotorula* and because of its specific characters we consider it as new under the name *incarnata* because of the red color it shows in all cultures. This yeast was isolated from the "aguamiel" produced by the "maguey" (*Agave*) and also from the "pulque" obtained from the fermented aguamiel.

The fundamental characters of this new species of yeast are:

1.—Culture in beer-wort: At 25° C. after 4 days a small sediment appears; after 15 days a ring is formed and after 20 days a mucous veil formed by the reunion of previously isolated areas. Ring, sediment and veil are flesh-colored. At the same temperature, after 3 days oval cells are obtained, isolated, with granular protoplasm, the majority with a single bud, some with several in crown form (3.5-4 by 4-6 micra).

2.—Culture in wort-agar: At 25° C. after 12 days circular colonies are obtained, with smooth surface, convex elevation, entire borders, pink-redish in color, shiny and with a mucous consistency. After 48 hours, cells are oval-elongated, clearly oval after 10 or 15 days. (3-3.5 by 6-7 micra).

It is interesting to mention that after 30 days in these media, some cells appear producing protoplasmic elongations as if they were to enter in conjugation, which is never observed in other cases. Cells of this type are extremely numerous in media with "aguamiel".

3.—Streak-culture. In wort-agar after 15 days at 25° C. they show an equinulated form, finely striated surface, convex elevation, undulated borders, incarnate in color, intensely shiny and a viscous consistency.

4.—Giant colonies. In wort-gelatin no giant colonies can be obtained because of the early liquefaction of the medium. In wort-agar they acquire characters similar to those mentioned above.

5.—Asci and ascospores. Even following the most diverse techniques specially recommended no asci or ascospores were formed.

6.—Liquefaction of gelatin. Results clearly positive; after 10 days, this process begins and is finished after 20 or 30 days.

7.—Fermentation. Does not ferment any sugars.

8.—Selectivity to sugars:

Dextrose	+	Saccharose	+
Levulose	+	Maltose	+
Manose	+	Lactose	+
Galactose	+	Raffinose	?
	(a little)		

9.—Assimilation of Nitrogen:

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

10.—Ethyl alcohol as substratum for development: Very little, even after 30 days.

BIBLIOGRAFIA

- BARRAGAN, J.—1870.—El Ciptococcus del Pulque.—La Naturaleza. T. 1, p. 228-233.
- CARBAJAL, A. J.—1901.—Estudio sobre el pulque, considerado principalmente desde el punto de vista zimotécnico. Bol. Soc. Agric. Méx. T. XXV, p. 641-655, 726-730.

- CIFERRI, R. y REDAELLI, P.—1925.—Monografia della *Torulopsidaceae* a pigmento rosso.—Atti dell'Ist. Bot. R. Univ. Pavia.—Vol. II, p. 147-303.
- CIFERRI, L. y REDAELLI, P.—1935.—Contribuzioni alla sistematica della *Torulopsidaceae*. Archiv. Mikrobiol., V. 6, p. 9-72.
- GUILIERMOND, A.—1920.—The Yeasts.—Translated by F. Tanner.—John Willey and Sons, New York, p. 1-424.
- GUILIERMOND, A.—1928.—Cléf dichotomique pour la détermination des levures.—Librairie Le Francois, Paris, p. 1-124.
- HENRICI, A. T.—1941.—The Yeasts: Genetics, Cytology, Variation, Classification and Identification. Bacteriological Reviews. V. 5, p. 97-179.
- LANGERON, M. et GUERRA, P.—1932.—Nouvelles recherches de zymologie médicale. Ann. Parasitol. T. 16, p. 36-84, 162-179, 429-476, 481-525.
- LODDER, V.—1934.—Die Hefesammlung des "Centraalbureau voor Schimmelcultures". Beiträge zu einer monographie der Hefearten II Teil. Die Anaskosporogenen Hefen. Erste Hälfte. Amsterdam, p. 1-256.
- STANTIAL, H.—1935.—The sporulation of yeasts. Trans. Roy. Soc. Canada 29, Sect. III, p. 175-188.