

## ESTUDIOS REALIZADOS EN MEXICO SOBRE LEVADURAS \*

Por MANUEL RUIZ ORONoz,  
del Instituto de Biología.

A primera vista, y por ser un tema tan especializado el referente a las levaduras, cabría pensar que son muy contados los investigadores mexicanos que le han dedicado su atención; sin embargo, y después de una amplia revisión de la bibliografía al respecto, nos daremos cuenta, a través de las líneas del presente trabajo, de que son varios los hombres de ciencia que han enfocado sus estudios en este tema, y numerosos los trabajos que han publicado sobre el mismo. La mayoría de los trabajos se refieren a las levaduras del pulque, bebida típicamente mexicana, cuyo estudio ha apasionado a muchos investigadores.

Unos años después de la primera mitad del siglo pasado se iniciaron los primeros estudios tendientes a conocer los microorganismos que se encuentran en el pulque, y con ellos empezaron en México los primeros conocimientos acerca de las levaduras.

Fué indudablemente el Dr. Leopoldo Río de la Loza el primer investigador que observó el pulque ante el microscopio, en el año de 1864, quien creyó ver en esta bebida acúmulos de substancias albuminoideas, pero no seres vivos. En su trabajo "Apuntes sobre algunos productos del Maguey", expresa haber colocado gotas de pulque ante el microscopio y nos dice: "El pulque fresco, tal como se recibe de los conductores, deja ver las substancias albuminoideas bajo la forma de filamentos ya existentes, y de otros que se forman por la unión de pequeños globulillos que, agregándose en un sentido, aparecen como fibras que a su vez se unen, tomando el aspecto de radículas o de pequeñas arborizaciones; algunos se agrupan en masas y entre unos y otros hay glóbulos mayores oscuros, con pequeños núcleos luminosos." Tomando en cuenta lo anotado por el Dr. Río de la Loza, podemos asegurar que lo que él observó, con las técnicas imperfectas de

\* Este trabajo fué leído en el Congreso Científico Mexicano organizado por la Universidad Nacional Autónoma de México, en septiembre de 1951, en la ciudad de México, D. F.

aquella época, no fueron las substancias albuminoideas, sino las distintas especies de levaduras y bacterias que abundan en el pulque. Lo que él llamó "pequeños núcleos luminosos", no son sino los pequeños glóbulos de grasa muy brillantes que se notan en muchas de las levaduras. Lamentamos que el Dr. Río de la Loza no haya continuado sus observaciones y, por lo mismo, no se diera cuenta de que había visto los microorganismos del pulque, con lo cual hubiera estimado posiblemente la significación de los mismos.

El primer estudio de verdadero interés referente a las levaduras del pulque, se debe al Dr. José Barragán, publicado en 1870 y titulado: "El *Cryptococcus* del pulque." El citado autor hizo estudios no solamente de la forma y dimensiones de las levaduras, sino también de su estructura, de su reproducción y aun de su composición química. Resume los caracteres de estos microorganismos en la siguiente descripción original: "Son unas células de 0.008 mm., esféricas u ovoideas, a veces libres, pero más comúnmente reunidas, dos, tres, hasta cuatro, en una línea flexuosa; de consistencia blanda, transparentes; compuestas de una membrana, un contenido y un núcleo, perceptibles sólo en ciertos reactivos; crecen por yemas y se reproducen verosímilmente por semínulas que se separan fácilmente las células; viven en el pulque y no están compuestas de celulosa y sí de uno o varios principios azotados."

El Dr. Barragán, de acuerdo con la clasificación de Kutzing en su "Species algarum", colocó estas levaduras dentro del grupo de las algas, considerando que constituían una especie semejante al *Cryptococcus* de la cerveza (*Cryptococcus cerevisiae*), especie descrita por Kutzing; pero no hizo una nueva variedad, ni una nueva especie, dándole solamente el nombre de *Cryptococcus* del pulque.

El estudio del Dr. Barragán es muy loable y México debe sentirse orgulloso del mismo, pues en aquella época estaban realizándose estudios semejantes en otros países. Desde luego que la inclusión de las levaduras dentro de las algas ya no se admite, pero esto no debe considerarse como un error, pues así lo hacían todos los autores de aquella época.

En 1874 el alumno Francisco Guerrero y Visiera, pasante de la Escuela de Medicina, elabora una tesis para su examen recepcional titulada: "El vino del maguey", en la cual, sin hacer estudios especiales sobre las levaduras, se limita a indicar que el fermento del pulque es el ya estudiado por el Dr. Barragán y transcribe la descripción que éste hace del *Cryptococcus* del pulque. Sin embargo, como nota muy interesante, en uno de los párrafos de su tesis, dice refiriéndose al pulque: "La fermentación

alcohólica se verifica en virtud de la actividad del vegetal, que en su germinación y reproducción necesita de los alimentos del agua, el carbono y los del amoníaco." Esto último desde luego que es un error, pues sabemos que a las levaduras no les es necesario el amoníaco para vivir. Lo más importante de esta nota es la indicación de que la fermentación alcohólica del pulque se debe a la actividad del vegetal que allí se encuentra.

El Dr. José G. Lobato, en su trabajo "Estudio químico-industrial de los varios productos del maguey mexicano y análisis químico del aguamiel y el pulque", publicado en 1884, sólo indica someramente, en lo referente a las levaduras, que el fermento que determina la conversión del aguamiel en pulque es el estudiado por el Dr. Barragán, que es una alga del género *Cryptococcus*, pero no hizo observaciones ni estudios especiales de las levaduras. Como ya se sabe desde hace varios años, no son sólo las levaduras las que intervienen en la conversión del aguamiel en pulque, sino que influyen también numerosas bacterias. A este respecto, como ya lo anotamos, diez años antes fué más preciso Guerrero y Visiera, quien indicó que el *Cryptococcus* efectuaba la fermentación alcohólica.

Siete años después, en 1891, el Ing. José C. Segura publica un trabajo titulado: "El maguey. Memoria sobre el cultivo y beneficio de sus productos", en el cual, al referirse a las levaduras y tomando como guía los estudios del Dr. Barragán, observa y describe los "cuerpecillos orgánicos" que determinan la fermentación del pulque, llegando a las mismas conclusiones que este autor, o sea, que se trata de algas del género *Cryptococcus*, cuya especie no está aún determinada, "pues no se sabe si sea una nueva especie o variedades del *Cryptococcus cerevisiae*", y se conforma con llamarle, "hasta nuevo estudio . . . , *Cryptococcus* del pulque". Por el estudio que publica el Ing. Segura, estimamos que no hizo observaciones tan precisas como el Dr. Barragán, y que la descripción de las levaduras la tomó de este autor.

En 1896, el Dr. Fernando Altamirano, en su trabajo "Contribución al estudio del pulque", estudia, respecto a esta bebida, sus caracteres organolépticos, propiedades físico-químicas, composición química, caracteres distintivos de las diversas variedades de pulque, fermentación del aguamiel y propiedades fisiológicas y aplicaciones terapéuticas del mismo. Sin embargo, no hace ninguna mención acerca de las levaduras, por lo que estimamos que no hizo observaciones ni estudios sobre las mismas. En uno de los párrafos de su trabajo, hace una breve mención de las levaduras del género *Saccharomyces*, indicando que intervienen en la fermentación alcohólica, pero sin indicar que se encuentren en el pulque. Aunque el trabajo del

Dr. Altamirano no se refiera a las levaduras, nos ha llamado mucho la atención porque es el primer autor mexicano que cita el género *Saccharomyces*.

En el mismo año de 1896, el Dr. Angel Gaviño logra aislar y cultivar por primera vez varias levaduras y bacterias, describiendo algunos de sus caracteres. Entre las primeras aisló los siguientes cultivos: 1º, una colonia blanca, con levaduras de forma oval, aguzadas en una de sus extremidades y de 7 a 9 micras; 2º, una colonia de color rosa vivo, con levaduras de forma oval muy regular, de 6 a 8 micras; indica que este microorganismo es muy escaso en el pulque, y que en los sedimentos de éste se ven algunas veces caudas de un bello color de rosa; 3º, una colonia blanca opalina, con levaduras de forma estrangulada en el centro, como en vía de división, y que se colocan en una línea recta al reproducirse; son muy alargadas, de 7 a 8 micras de longitud por 3 a 5 micras de latitud.

El trabajo de Gaviño es acompañado de un dibujo a colores, no muy claro, de lo que se observa al microscopio en una gota de pulque, o sea, de levaduras y bacterias. No llegó a clasificar las levaduras que aisló y cultivó, ni realizó estudios más detallados sobre las mismas.

Cinco años después, en 1901, el mismo Dr. Gaviño presentó al Director del Instituto Patológico un informe de sus trabajos titulado: "Microorganismos del pulque." En este nuevo estudio describe en forma más detallada diversas bacterias y una sola levadura, a la que denomina "*Saccharomyces del pulque*", indicando que es el microorganismo más importante del pulque y que sus caracteres son muy semejantes a *Saccharomyces cerevisiae*. Logró cultivos en diversos medios y la esporulación de la levadura, anotando algunos de los caracteres macroscópicos de las colonias y microscópicos de las células. Es curioso hacer notar que, en la relación de su trabajo, el Dr. Gaviño sólo denomina a esta levadura *Saccharomyces del pulque*, y al pie de sus grabados anota: "*Saccharomices cerevisiae agavica*." Acompaña su publicación con varios dibujos esquemáticos de células de levaduras con brotes y con esporas, y con cuatro dibujos a colores, muy bien logrados, de cultivos en tubos de levaduras.

En el mismo año, o sea en 1901, el Dr. Antonio Carbajal publicó un trabajo titulado: "Estudio sobre el pulque, considerado principalmente desde el punto de vista zimotécnico." Logró aislar varias bacterias y dos levaduras, y a una de éstas le dedicó su atención, anotando los caracteres de los cultivos y los citológicos en aguamiel líquido, aguamiel gelatina, gelatina inclinada, placas de gelatina y bloques de yeso, en los que observó la

esporulación; asimismo comprobó la fermentación del aguamiel y de la sacarosa. Indicó que era el agente principal de la fermentación alcohólica del pulque, que se encuentra en el aguamiel antes de ser extraído del maguey, y que era una levadura silvestre. Concluye su trabajo designando a esta levadura con el nombre de *Saccharomyces cerevisiae agavica silvestre*. El trabajo es acompañado de dos dibujos que muestran, uno, las formas de las levaduras y sus brotes, y otro, las levaduras con sus esporas.

En el trabajo tan preciso y detallado del Dr. Carbajal, se nota al hombre de ciencia ya preparado, y así lo fué en la realidad, pues a fines del siglo pasado emprendió un viaje a Rusia, Alemania y Francia, en donde se dedicó al estudio de las levaduras y las fermentaciones; tuvo oportunidad de aprender las mejores técnicas de aquella época y trabajar con sabios como Metchnikoff y otros no menos famosos.

En el mismo trabajo, el Dr. Carbajal, indica haber aislado del pulque, en dos ocasiones, y como germen contaminante, una levadura que llamó *Torula rosada*, la cual no origina fermentación y cuyo estudio, anota, quedó incompleto por haberse contaminado los cultivos con otros microorganismos. Es probable que esta levadura haya sido la misma que aisló el Dr. Gaviño y de la cual indicó que forma "colonias de color rosa vivo".

En el mismo año, el Dr. Carbajal publica un trabajo titulado: "Los laboratorios zimotécnicos", en el que trata diversos asuntos muy interesantes sobre las fermentaciones y sobre las condiciones que debe reunir un buen laboratorio de zimotecnia. Una segunda parte de este trabajo la publica en 1903, bajo el título de: "Los laboratorios zimotécnicos o de fermentación", y en ella continúa los temas tratados anteriormente; pero en ambas publicaciones no se ocupa de las levaduras. Estos trabajos son de enorme interés y deben ser leídos detenidamente por todas aquellas personas a quienes interese la Zimología.

En el año de 1912, el mismo Dr. Carbajal da a conocer un trabajo titulado: "La fermentación racional del pulque", en el cual trata diversos aspectos muy interesantes acerca de las fermentaciones en general y en particular de la del pulque, pero ya no habla de las levaduras ni de otros microorganismos.

Durante quince años, las levaduras quedaron en completo olvido en nuestro país, ya que ningún investigador se ocupó de ellas. No fué sino hasta el año de 1916, cuando el Prof. Miguel Cordero se ocupa de nuevo de estos microorganismos en su trabajo titulado: "Levaduras del pulque. Aislamiento del fermento puro y seleccionado. Estudio del fermento." En

una primera parte de su publicación trata de los caracteres generales de las levaduras, de los diversos medios en que viven y de la acción sobre las mismas de agentes como la luz, el calor y distintos agentes químicos. Indica después haber efectuado siembras de aguamiel en diversos medios de cultivo, aislando varias levaduras, de las cuales tomó algunos caracteres culturales. Asimismo, las observó al microscopio, anotando un dato que nos parece un grave error, o sea que las células miden de 120 a 240 micras de largo por 60 a 90 micras de ancho, pues estas dimensiones jamás son alcanzadas por las levaduras. Obtuvo la esporulación de las mismas en diversos medios, hizo observaciones citológicas y determinó la reproducción de dichos microorganismos, pero no intentó su clasificación, por lo que, según él mismo lo expresa, envió dos cultivos de las levaduras al Dr. Guilliermond, para que este ilustre micólogo francés se encargara de clasificarlas. El Prof. Cordero ilustró su trabajo con algunas fotografías, no muy claras, de cultivos de levaduras y con varios dibujos a colores muy vistosos y precisos.

En el mismo año, el Prof. Cordero publica otro trabajo titulado: "Fermentación diastásica del jugo del agave", en el que hace diversas consideraciones generales acerca de las fermentaciones y en particular de la fermentación del aguamiel, pero no se ocupa de las levaduras.

Como ya lo anotamos anteriormente, en 1916 el Prof. Cordero envió a Guilliermond, para su estudio y determinación, dos cultivos de levaduras del pulque. Este investigador, uno de los mejores especialistas en levaduras, aisló de dichos cultivos dos especies distintas; una de ellas la colocó dentro del género *Pichia* y la denominó "Levadura del pulque N° 1", y la otra dentro del género *Saccharomyces*, llamándola "Levadura del pulque N° 2", pero a ninguna le asignó nombre específico. Los estudios del sabio francés, publicados en 1917 en el Boletín de la Dirección de Estudios Biológicos, dieron a conocer con mayor precisión los caracteres de los cultivos de estas levaduras, su citología, crecimiento, gemación, esporulación, caracteres bioquímicos, etc. Su investigación más ingeniosa a este respecto, fué, sin duda, la referente a la esporulación y germinación de las esporas de la "Levadura del pulque N° 2" (*Saccharomyces*). Aunque el trabajo de Guilliermond fué brillante y preciso, estimamos que tuvo una omisión muy importante al no dar nombres específicos a las levaduras estudiadas.

En el mismo año de 1917, el Prof. M. de María Campos publica un trabajo titulado: "Las fermentaciones", en el cual, después de disertar sobre las fermentaciones en general, en especial sobre la alcohólica, y acerca de

la importancia de las mismas, anota el resultado de los estudios efectuados en el laboratorio, indicando más o menos lo mismo ya publicado por el Prof. Cordero en el año anterior, respecto a las levaduras del pulque, agregando solamente que los citados microorganismos habían sido colocados dentro de los géneros *Pichia* y *Saccharomyces*. La cita de estos dos géneros por el autor mencionado, se debió seguramente a que ya se conocía el informe de Guilliermond, e inclusive su trabajo se publicó en el mismo tomo del Boletín de la Dirección de Estudios Biológicos, y no estimamos que haya hecho estudios especiales por los que pudiera llegar a la clasificación, ya que no lo indica así en su trabajo. Como dato muy importante digno de citarse, plantea ante el Ministro de Fomento de aquella época una aspiración que sigue siendo en la actualidad el sueño más hermoso de los zimólogos: la fundación en México de un Instituto de Fermentaciones, basado en la importancia de la Zimología, tanto desde el punto de vista científico como del práctico.

Siete años después, la Secretaría de Industria, Comercio y Trabajo logró que durante dos años, 1924 y 1925, estuviera en nuestro país el sabio alemán Dr. Paul Lindner, especialista en Zimología del Instituto de Fermentaciones de Berlín, con el exclusivo objeto de estudiar los problemas relativos a la fabricación científica del pulque. Este investigador hizo importantes estudios microbiológicos y aisló numerosas bacterias, pero sus trabajos publicados en México sólo fueron dos, muy cortos, titulados: "La importancia práctica y científica del estudio del pulque" y "Mejoras para el empleo del aguamiel", en los cuales anota datos muy breves y generales acerca del aguamiel y del pulque, de la extracción del primero, de la manera de mejorar la fermentación, etc., e indica los nombres y unos cuantos caracteres de algunas bacterias por él aisladas, pero no cita las levaduras. En 1932, el mismo investigador publicó en Madrid, en la revista "Investigación y Progreso", un artículo titulado: "Resultados biológicos de un viaje de estudios a México", en donde vuelve a tratar de algunas bacterias del pulque, pero no de las levaduras. Mucho nos extraña que Lindner, siendo uno de los mejores especialistas en levaduras, no haya prestado atención a las que se encuentran en el aguamiel y en el pulque; pero ello se debió seguramente a que el tiempo que estuvo en México fué muy corto y su atención la enfocó sobre las bacterias, las cuales, desde otros aspectos, son más importantes que las levaduras; además, sobre éstas ya se habían logrado estudios más precisos, especialmente los de Guilliermond, lo cual seguramente fué tomado en cuenta por el sabio alemán.

En el año de 1925, María Morton Gómez, que estuvo como ayudante

de Lindner, presentó una tesis titulada: "Aprovechamiento industrial del Maguey. Su trabajo es bastante extenso, bien documentado, y presenta muchos datos originales. Dedicó tres o cuatro páginas a las levaduras del pulque, de las cuales cita dos especies, asignándoles los nombres de *Pichia agave* y *Saccharomyces agave*. Los caracteres que anota respecto a estas levaduras, no fueron datos originales ni observados personalmente, sino que están tomados del trabajo de Guilliermond. Comparando ambos estudios, se encuentran en el trabajo de Morton Gómez frases íntegras de lo que publicó Guilliermond, y muchos conceptos completamente semejantes, aunque con los términos cambiados, y no agrega nada nuevo a lo dicho por el sabio francés. Estimamos que hubiera sido más adecuado y su trabajo en nada perdía mérito, si la señorita Morton Gómez hubiera indicado a este respecto: según Guilliermond las levaduras del pulque (*Pichia* y *Saccharomyces*) hasta hoy estudiadas, tienen los siguientes caracteres... Además, al anotar la bibliografía, comete un error más, que es el no citar el trabajo de Guilliermond, del cual sólo hizo un pequeño resumen.

En 1931, el alumno pasante Fernández Tagle presenta una tesis titulada: "Estudio de las vitaminas y de la fermentación viscosa en el pulque." En la parte referente a las levaduras anota el estudio de dos especies; respecto a una de ellas dice es del tipo de *Saccharomyces cerevisiae*, y la otra del género *Pichia*. En lo referente a la primera especie, sin indicar haber obtenido cultivos puros, anota la forma de las células, su gemación y esporulación, algunos caracteres culturales, germinación de las ascosporas, citología de las levaduras, diastasas segregadas por las mismas, los productos de la fermentación, condiciones fisiológicas para la gemación y esporulación, etc. Aunque algunos de los estudios a este respecto estimamos que son originales, la mayor parte están tomados de autores anteriores, a muchos de los cuales ni siquiera cita en la bibliografía. Además, el hecho de no anotar cómo aisló las cepas, indica que no trabajó con cultivos puros, sino seguramente con varias especies de levaduras que existen en el pulque. Asimismo, incurre en varios errores, como el anotar que las levaduras se multiplican por un procedimiento intermediario entre la división transversal y la gemación, carácter según el cual ya no pertenecerían al género *Saccharomyces*. En otra parte indica que la levadura vive en simbiosis con la bacteria del género *Leuconostoc*, lo que es muy discutible y no recordamos que otro autor lo haya aseverado.

Con respecto a la levadura del género *Pichia*, anota algunos caracteres tomados del estudio de Guilliermond y agrega: "Esta levadura posee endotriptasa. En la fermentación del aguamiel desempeña el papel de aromati-

zante a partir de la glicerina, ácido succínico y otros productos secundarios de las fermentaciones alcohólica y viscosa, de ésteres y alcoholes superiores que comunican al pulque su olor característico." Estas afirmaciones respecto a la levadura del género *Pichia* no están comprobadas, y extraña que hable de los productos secundarios de la fermentación alcohólica, cuando en su mismo trabajo indica que esta levadura no efectúa fermentaciones.

Entre la flora accidental del pulque anota dos especies de levaduras: *Torula mucilaginoso* y *Torula rosada*, indicando unos cuantos caracteres de las mismas, lo cual no permite darse cuenta ni siquiera del género, por lo que su designación no tiene ninguna validez. Acompaña su trabajo con varias microfotografías no muy claras de levaduras y dos magníficas fotografías de colonias gigantes, una del género *Pichia* y otra del *Saccharomyces*. Llama la atención que al pie de estas fotografías pone *Pichia agave* en una, y en la otra *Saccharomyces cerevisiae vini*, nombres específicos que no cita en el trabajo.

En el año de 1932, Dora Sánchez Martínez presenta una tesis titulada: "Contribución al estudio bacteriológico de la flora anaeróbica del pulque." Aunque por el título se entiende sólo el estudio de la flora anaeróbica del pulque, dedica también un pequeño párrafo a las levaduras, pero sin efectuar ninguna observación, aislamiento ni cultivo de las mismas, y aun sin tomar en cuenta los estudios anteriores, limitándose a indicar unos cuantos caracteres de las levaduras, entre los cuales hay unos francamente erróneos, como cuando dice haber hecho la observación "in vivo" de un "núcleo claramente perceptible", pues sabemos bien que el núcleo no se nota en esas condiciones y aun con tinciones es difícil, a menos que éstas sean muy buenas. Lo más probable es que tomó los glóbulos de grasa de las levaduras por el núcleo, error bastante grave.

En el mismo año citado anteriormente, Humberto Mayans Victoria elabora una tesis titulada: "El pulque. Sus defectos higiénicos; la vinificación del aguamiel." En la parte referente a las levaduras, sin indicar haber efectuado estudios personales, anota los autores que ya las han tratado y proporciona los caracteres más importantes de *Pichia agave* y *Saccharomyces agave*, nombres que tomó de Morton Gómez; dichos caracteres fueron tomados de los estudios anteriores. En una de las microfotografías que publica, anota al pie de la misma que se observan "abundantes diplococos y filamentos de pulque", lo que nos indica que dicha microfotografía fué mal interpretada, pues lo que en ella se observa, son abundantes levaduras y diversos bacilos y bacterias filamentosas. La bibliografía de su trabajo es

bastante completa y cita a todos los autores que se habían ocupado del asunto.

El Dr. Gerardo Varela, en 1934, publicó un corto trabajo titulado: "Faringitis por levaduras." "Por primera vez en México —dice el autor— se diagnostica un caso de faringitis producido por levaduras." Logró cultivar las levaduras en varios medios, tomó caracteres de los cultivos e indicó que se trataba de *Saccharomyces anginae*. Con todo el respeto que merece el autor de este trabajo, eminente bacteriólogo mexicano, estimamos que con los pocos caracteres que cita no se puede clasificar una levadura, y por lo tanto la posición sistemática de la misma queda dudosa. Desde el año de 1920, en el conocido libro de Guilliermond, "The Yeasts", se caracteriza esta especie dando datos acerca del tamaño de sus células, de su reproducción, de sus esporas, cultivos en gelatina y en agar, de la fermentación, etc., datos que no aparecen en el trabajo del Dr. Varela. Por estas razones y otras más, pudiera pensarse que dicha levadura haya sido un microorganismo saprofito accidental, como muchos de los que se encuentran en el tubo digestivo.

En la tesis de Alfonso Bulle Goyri, elaborada en 1934 y titulada: "Proceso de elaboración de alcohol utilizando como materia prima mieles incristalizables residuos de la fabricación de azúcar. Fermentación con levaduras aclimatadas antisépticos", hay datos de recopilación acerca de los caracteres generales de las levaduras, de su reproducción, de las levaduras de fermentación alta y de las de fermentación baja, de su citología, nutrición, aclimatación de las mismas a los antisépticos, de los distintos métodos de fermentación, de la preparación de cultivos abundantes, etc., pero no aisló levaduras para efectuar su trabajo, sino que trabajó con levaduras ya preparadas en fábricas, sin indicar con qué géneros y especies. El trabajo es útil para consulta de principiantes.

En 1935, los señores Carlos Sánchez M., Isaac M. Ibarra y Luis Campa, presentan ante el Departamento de Salubridad Pública un estudio de recopilación sobre el pulque, al cual no solamente podemos llamar mediocre, sino pésimo. Con respecto a las levaduras se concretan a decir, en unas cuantas líneas, que aparecen una levadura del tipo "Sacaromices" y otra del "Apiculatus", citando además el género "Willia o Pichia." Es imperdonable un estudio de recopilación de esta naturaleza, cuando ya se conocían los trabajos de Carbajal, Guilliermond y otros autores citados en este trabajo. Además, el nombre *Saccharomyces*, ni siquiera lo escriben correctamente.

Salvador Ruiz y Angeles, en 1936, presenta una tesis titulada: "Cuanteo del Indol para estimar su aumento o disminución en la simbiosis: colibacilo y las levaduras de champagne, cerveza y pulque." El escaso mérito que tiene este trabajo, en lo que respecta a las levaduras, es la recopilación, más o menos extensa, de algunos datos acerca del origen, vitalidad, conservación, morfología, identificación, composición y clasificación de las levaduras, y también sobre las fermentaciones y sus principales teorías, así como de la acción sobre éstas de los agentes físicos y químicos y de los antisépticos. En cuanto a su trabajo experimental, según un cuadro adjunto, parece haber sido minucioso, pero los resultados y las conclusiones a que llega no pueden tomarse en cuenta, ya que no indica con cuáles especies de levaduras trabajó, limitándose a decir "levadura de pulque", "levadura de champagne" y "levadura de cerveza". Entre las levaduras que se encuentran en la fermentación del champagne y sobre todo en la del pulque existen varias especies, y cabe preguntarse: ¿con cuál especie hizo sus experiencias?, ¿sus cultivos fueron cepas puras?, lo más seguro es que no haya sido así y que trabajó con varias especies al mismo tiempo. En cuanto a la levadura de cerveza, lo más probable es que haya trabajado con *Saccharomyces cerevisiae*, pero ¿con cuál variedad?, ¿con qué cepa? En este caso, como en muchos otros similares, debemos llamar la atención a los jóvenes pasantes y sobre todo a los profesores que dirigen una tesis, indicándoles que cuando se trabaja con microorganismos, lo primero que debe hacerse es aislarlos en cepas puras y clasificarlos, pues de otra manera sus estudios no tienen ningún valor, y los resultados no pueden tomarse en cuenta.

En 1938, Rubén Navarrete Garibay presenta una tesis titulada: "Alcohol de henequén", en la cual indica haber observado las levaduras de la fermentación del jugo que se extrae de los troncos del henequén después de su cocción, anotando algunos de sus caracteres morfológicos, citológicos, de reproducción, de esporulación, así como los de los cultivos en medios líquido y sólido, llegando a la conclusión de que se trata de la especie *Saccharomyces ellipsoideus*. Acompaña su trabajo con cuatro microfotografías, bastante aceptables, de levaduras en campo oscuro. Aunque el esfuerzo del autor es loable, su determinación sistemática no tiene valor, pues no indica haber aislado cepas puras, y los caracteres los obtuvo de las levaduras tomadas directamente del jugo en fermentación, siendo difícil suponer que en un líquido de fermentación natural, sólo exista una sola especie de levadura. Además, con muy pocos caracteres, sin estudiar los bioquímicos, establece la clasificación. Por último, no anota bibliografía al respecto, cuando por esta época ya se conocían numerosos trabajos sobre estos micro-

organismos. En conclusión: la clasificación de esta levadura no tiene valor, y sus únicas observaciones bien realizadas son las referentes a la reproducción y esporulación de la misma.

El Ing. Eduardo Paz, en 1945, da a conocer un trabajo muy interesante acerca de "La continuidad en los procesos microbiológicos industriales", y aunque es un estudio de recopilación, trae datos muy importantes para todos los zimólogos. En uno de sus capítulos: "Industria de reproducción de las levaduras", resume, en forma muy precisa y clara, las principales ideas conocidas hasta esa fecha acerca de la reproducción de las levaduras; discute el esquema clásico de Buchanam que considera varias fases distintas en la reproducción de las levaduras; anota la ecuación matemática de Pearson, menciona las experiencias realizadas por Bilfor, Scalf, Stark y Kolachov, autores que han estudiado este punto y cuyos trabajos son de enorme interés al respecto. Termina el capítulo anotando una tabla sobre la "Constancia del número de células de levadura durante la reproducción", adaptada de los trabajos de los cuatro autores mencionados. Trabajos como éstos, deben ser tomados en cuenta por los técnicos que dirigen las fábricas de levaduras y en aquellas donde estos microorganismos se utilizan en la fermentación. En otro de los capítulos de su trabajo, expone las ideas esenciales y últimas acerca de la industria de la fermentación alcohólica, lo que debe ser tomado en cuenta por los zimólogos.

En el mismo año, Manuel Ornelas Carrillo presenta como tesis un trabajo titulado: "Proyecto de una fábrica de levaduras alimenticias." Es una tesis bastante extensa, muy bien elaborada e ilustrada, en la que trata temas muy diversos e interesantes sobre el punto de estudio. En lo que respecta a las levaduras, hace un trabajo de recopilación extenso, profundo y bien documentado, que puede servir de guía a todos los que se inician en el estudio de las levaduras. Entre los temas que a este respecto trata están los siguientes: funciones vitales de las levaduras (nutrición, respiración y reproducción); influencia de diversos factores sobre dichas funciones (oxígeno, gas carbónico, pH, temperatura, presión osmótica, secado, etc.); factores de crecimiento; las levaduras como portadores de catalizadores bioquímicos; autólisis; conductividad eléctrica de las levaduras; composición de las mismas; velocidad de su crecimiento; usos de las levaduras alimenticias y propiedades; principales especies de levaduras utilizadas en la industria, etc. Como conclusiones de su trabajo, llega, entre otras, a las siguientes: I. Es urgente industrializar los mieles incristalizables transformándolas en un producto útil a la industria o a la población directamente; II. Dada la enorme falta de carne no tan sólo en México, sino en varios países cuya

dieta diaria media es sumamente baja, el uso de las levaduras alimenticias soluciona esta grave crisis. Aparte del uso en la alimentación humana, la levadura tiene grande empleo en la ganadería y en la avicultura; III. La obtención de levaduras alimenticias a partir de mieles incristalizables es perfectamente costeable en una fábrica anexa a un ingenio azucarero.

Ilustra su trabajo, el señor Ornelas Carrillo, con cuatro láminas que muestran magníficos dibujos de levaduras, tomados de diversos autores; con doce gráficas referentes a los distintos temas tratados, y con nueve dibujos excelentes de distintos aparatos usados en las fábricas de levaduras. Cada capítulo trae una extensa bibliografía que puede servir para documentación de los estudiosos. Es un trabajo que, aunque trae muchos datos de recopilación, significa un verdadero esfuerzo digno de imitarse por los alumnos pasantes que elaboran sus tesis.

En 1946, Arturo Elizondo García elabora una tesis acerca de los "Microorganismos de contaminación natural que se desarrollan en el jugo fresco de naranja." Es un trabajo muy encomiable de un alumno pasante que se prepara a iniciar su vida profesional y quizá a seguir por la senda de la investigación. Además de aislar y estudiar varias cepas de bacterias, nos indica haber aislado cerca de 200 cepas de levaduras, las cuales, después de estudiar sus principales caracteres, reúne en seis grupos que corresponden a los géneros *Hanseniospora*, *Pichia*, *Torulopsis*, *Endomycopsis*, *Hansenula* y *Rhodotorula*. De estos seis géneros estudia sus caracteres culturales, los morfológicos y los bioquímicos. Aunque no llega a la determinación de las especies, el trabajo es de gran interés, porque al proporcionar los caracteres bioquímicos, especialmente los referentes a la fermentación, indica los datos fundamentales para el posible empleo de estas levaduras en la industria de la fermentación alcohólica. Acompañan al trabajo algunos esquemas de las levaduras, gráficas y cuadros muy bien logrados, y una amplia bibliografía. Alabamos el esfuerzo de alumnos que, como el citado, al elaborar sus tesis escogen puntos originales que contribuyen al avance de la Ciencia, dejando problemas planteados que servirán de estímulo a las nuevas generaciones. Asimismo, en trabajos de este tipo, se nota inmediatamente la influencia decisiva de quien dirigió la tesis, que en este caso es el doctor Alfredo Sánchez-Marroquín.

Desde 1946, el Dr. Alfredo Sánchez-Marroquín, muy conocido en nuestro medio científico por sus valiosas investigaciones, emprende, ya solo, ya con la colaboración de algunos de sus discípulos, una serie de estudios bioquímicos muy importantes acerca de ciertas especies de levaduras. El

primer estudio que presenta en dicho año, en compañía de su discípulo Enrique Bazúa Fitch, se refiere a la actividad amilolítica y fermentativa de la amilasa de *Endomycopsis fibuliger* en diversos substratos amiláceos. Tomando en cuenta la extraordinaria importancia de las amilasas en la industria, los autores presentan sus investigaciones sobre una de las pocas levaduras que tienen actividad amilolítica. Después de anotar en forma muy extensa, clara y precisa, el resultado de sus numerosas experiencias, llegan a conclusiones interesantes, entre las cuales destacan las siguientes: 1ª, la aeración activa el crecimiento de la levadura; 2ª, la agitación tiene efecto benéfico sobre la hidrólisis del almidón y también sobre la fermentación; 3ª, un pH ácido (en este caso 5.0) tiene marcada acción acelerante sobre la levadura; 4ª, la temperatura de 37° C. acelera en gran forma el crecimiento y la fermentación, pero como a esa temperatura hay una pérdida considerable de alcohol, eligieron la de 28° C., en que esto no sucede y en que se verifica mejor la hidrólisis al almidón; 5ª, la concentración del substrato más adecuada es alrededor de 8-9% en glucosa, o de 10-15% en harina; 6ª, entre los almidones, el de maíz presenta la mayor resistencia a la acción de la amilasa y el de cebada la menor resistencia. De acuerdo con las conclusiones anteriores y otras más que no se citan, los autores indican que *E. fibuliger* promete un futuro muy satisfactorio en diversas aplicaciones industriales, cuando se llegue a encontrar sus condiciones óptimas de acción. Una amplia bibliografía acompaña al trabajo, de gran interés para las industrias de producción de alcohol etílico.

En 1947, María Ortiz Vázquez elabora como tesis un estudio titulado: "Fermentación acética comparada de *Acetobacter aceti* y *Zygosaccharomyces acidifaciens*." Como todas las tesis preparadas en el laboratorio de Microbiología Experimental de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, bajo la atinada dirección del Dr. Sánchez-Marroquín, es un trabajo minucioso y que nos proporciona nuevos datos acerca del punto que trata. Después de una breve historia acerca de la fabricación del vinagre, de los investigadores que han estudiado esta fermentación, de los microorganismos que intervienen en la misma, etc., indica la obtención, desde hace tiempo, de ácido acético a partir de algunas levaduras, entre ellas *Zyg. acidifaciens*, de la cual nos presenta sus caracteres esenciales. Después anota el estudio comparativo de la fermentación acética entre *A. aceti* y *Z. acidifaciens*, efectuando para ello numerosas experiencias personales, entre ellas la preparación de vinagre con ambos microorganismos a partir de melazas y jugo de piña, llegando a la conclusión de que la producción de ácido por la levadura citada, en las condiciones estudiadas, resulta muy baja para ser

utilizada con fines prácticos, por lo que la obtención de vinagre y ácido acético, se logra fundamentalmente por fermentaciones bacterianas.

Continuando los estudios sobre la amilasa de *E. fibuliger*, Sánchez-Marroquín y Solórzano M. presentan, en 1947, un trabajo sobre las actividades amilolítica y fermentativa de cultivos mixtos de *E. fibuliger* y *Saccharomyces Carbajali* bajo diferentes condiciones, llegando, después de efectuar numerosas experiencias, a conclusiones muy interesantes, entre las cuales destacan las siguientes: 1ª, el óptimo de hidrólisis y fermentación del almidón se logra con la harina de trigo total a una concentración de 10%; 2ª, en lo referente a la fermentación (250 ml. de medio), la proporción 5:3 (*Endomycopsis-Saccharomyces*) dió los resultados más satisfactorios; 3ª, con cultivos mixtos es posible obtener un rendimiento alcohólico superior al doble del obtenido con el cultivo solo de *E. fibuliger*. Este trabajo, por el tema que trata y las conclusiones que obtiene, no sólo es de interés científico, sino de gran importancia práctica en las industrias de alcohol etílico.

En un nuevo estudio sobre la amilasa de *E. fibuliger*, Sánchez-Marroquín y Gavarrón F. publican, en 1947, sus investigaciones acerca de las principales características de las preparaciones enzimáticas crudas y purificadas del citado fermento. Los autores estudian la acción sacarogénica y la dextrogénica comparativamente en cada una de las preparaciones enzimáticas sometidas a temperaturas elevadas y a diferentes pH con objeto de conseguir su inactivación parcial, y también en aquellas en que trataron de lograr una precipitación fraccionada. De los resultados experimentales obtenidos, los autores indican que no les fué posible la separación de la amilasa en sus dos componentes, en las condiciones en que efectuaron sus experiencias. El trabajo es acompañado de numerosas gráficas muy precisas y laboriosas, así como de una amplia bibliografía.

Carlos del Río Estrada, aventajado discípulo de Sánchez-Marroquín, presenta en 1947 un trabajo en el cual hace una cuidadosa revisión acerca de los estudios efectuados hasta entonces sobre la microbiología del pulque, citando a los diversos autores que se han ocupado del asunto e indicando los puntos principales de sus trabajos. En lo referente a las levaduras, comenta los estudios de Río de la Loza, de Barragán, de Gaviño, de Carbajal, de Guilliermond, de Morton Gómez, de Fernández Tagle y de Ruiz Oronoz, agregando que él está estudiando el metabolismo de *S. Carbajali*. Una bibliografía muy amplia y completa acompaña al trabajo.

En 1948, Sánchez-Marroquín con dos de sus discípulos, Emilio Medellín y Carlos Alvarez, presentan un estudio titulado: "Influencia de la selección de levaduras en vinificación", en el cual nos indican la gran im-

portancia que ha alcanzado la industria vinícola mexicana y, por lo tanto, el interés que tiene el estudio científico de sus problemas. Descando contribuir a la resolución de los mismos, estudiaron levaduras que predominan en las heces de vinos blanco y tinto procedentes de la Compañía Vinícola de Saltillo, S. A. Aislaron 35 cepas de levaduras, a las cuales, después de estudiarles sus caracteres esenciales, las colocaron en cuatro grupos representativos que correspondieron a las especies *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus*, *S. pasteurianus* y *S. fragilis*, de las que estudiaron sus principales características bioquímicas y sus propiedades relacionadas con la fermentación. Con una de las cepas seleccionadas (cepa L-1, *S. cerevisiae* var. *ellipsoideus*) prepararon un vino blanco (vino I) cuyas características físicas y composición química se compararon con otro (vino II) que obtuvieron con mezclas de tres levaduras (cepas L-1, L-3 y L-4), así como con dos vinos similares de reconocida buena calidad. De esta comparación, llegaron a la conclusión de que el empleo de la mezcla de levaduras seleccionadas, en las condiciones por ellos estudiadas, influye favorablemente en la calidad del vino obtenido. Una amplia e interesante cita de trabajos, enriquece la bibliografía a este respecto.

En el mismo año, Sánchez-Marroquín elabora un trabajo acerca de las levaduras de la demolición anoxibiótica de la glucosa, en el que nos da a conocer puntos muy interesantes a este respecto, como los trabajos de Gray, quien establece seis grupos de levaduras de acuerdo con su tolerancia al alcohol, anotando, dentro de cada uno de estos grupos, las especies más importantes utilizadas en la industria. Nos indica, asimismo, la división de las levaduras industriales en "levaduras superficiales", cuya especie representativa es *S. cerevisiae*, y "levaduras del fondo", cuya especie principal es *S. carlsbergensis*, agregando que la mayoría de las levaduras industriales son variedades o razas de las especies citadas. Asienta la importancia del comportamiento de las levaduras frente a la rafinosa, discutiendo los métodos principales para comprobar la fermentación de este azúcar. Cita los trabajos de Fink, que ha intentado clasificar las levaduras industriales según su espectro citocrómico; los de Stockhausen, que utilizó la producción de gomas para diferenciar diversos tipos de levaduras industriales, y los de otros autores que toman distintas propiedades de las levaduras para clasificarlas. Indica cuáles son las principales levaduras empleadas en la fermentación de los vinos, de la cerveza, de los granos, de las melazas, de los productos de la hidrólisis de la madera y del pulque. Por último, nos habla de la preparación de los cultivos iniciales para las fermentaciones, de la preparación del substrato y de la producción de levaduras en gran escala.

Es un trabajo de gran utilidad para todos los zimólogos, acompañado por una amplia bibliografía.

En el mismo año, Sánchez-Marroquín y Gavarrón publican el último de los estudios sobre la amilasa de *E. fibuliger*, determinando las características de la acción de dicha amilasa sobre el almidón comercial, y llegando, después de experiencias muy minuciosas, a conclusiones interesantes, entre las que anotamos las siguientes: 1ª, los productos principales de la hidrólisis son las dextrinas, formándose, además, una pequeña cantidad de glucosa; 2ª, la actividad enzimática aumenta con la concentración del sustrato, habiéndose obtenido la mayor actividad a una concentración máxima de 10%; 3ª, por los resultados obtenidos, parece ser que el valor de la enzima, desde el punto de vista industrial, puede ser de importancia, ya que por un procedimiento relativamente sencillo se consigue una actividad que equivale a la de un extracto de malta de 10%. No nos queda sino felicitar a los autores de las investigaciones sobre la amilasa de *E. fibuliger*, por la serie de trabajos tan interesantes y útiles a la industria, que dejan bastante completo el estudio de este punto.

La señorita M<sup>a</sup> Elena Ramírez Villegas, en 1948, nos da a conocer una tesis que titula: "Aumento de rendimiento alcohólico de destilería por adaptación de levaduras", que representa un trabajo muy laborioso en el cual utilizó tres cepas de *S. cerevisiae* y dos de *S. cerevisiae* var. *ellipsoideus*. Efectuó experiencias muy minuciosas y detalladas, en las que seguramente tardó bastante tiempo, presentando varios cuadros y gráficas muy detallados de las diferentes pruebas de fermentación. Llegó a la conclusión de que la obtención de altos rendimientos alcohólicos en destilería sería posible tomando en cuenta lo siguiente: 1º, alta concentración inicial de azúcares fermenticibles; 2º, operar en condiciones de continuidad y semicontinuidad; 3º, adicionar con frecuencia medio-repuesto concentrado (30 g. por 100 ml.), sin elevar la concentración inicial; 4º, aclimatación de cepas de levaduras y su selección artificial consiguiente a mostos con altas concentraciones de azúcares, y tolerancia a altas concentraciones de alcohol.

Elogiamos calurosamente el trabajo de la Srta. M<sup>a</sup> Elena Ramírez y rendimos un homenaje al extinto Ing. Eduardo Paz Herrera, que dirigió el estudio, y al prestigiado Ing. Pablo H. Hope, que atinadamente hizo la supervisión del mismo.

En 1949, Sánchez-Marroquín nos da a conocer un trabajo titulado: "Nuevos datos acerca de la microbiología del pulque." En esta corta, pero interesante revisión, el autor presenta en forma condensada, pero clara y

precisa, todo lo que se sabe hasta la fecha acerca de la microbiología del pulque, haciendo destacar las investigaciones más importantes al respecto. Hace referencia a los trabajos de Río de la Loza, Barragán, Gaviño, Carbajal, Guilliermond, Morton Gómez, Fernández Tagle y Ruiz Oronoz, y agrega los nuevos datos acerca de las investigaciones realizadas en el laboratorio a su cargo en la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Estos datos se refieren principalmente a las bacterias, y en cuanto a las levaduras, indica que se están haciendo investigaciones sobre el metabolismo de *S. Carbajali* Ruiz, la levadura más importante del pulque. Agrega, por último, que se iniciarán estudios sobre la composición química de las levaduras, con objeto de determinar si pueden utilizarse con éxito en la alimentación.

En el mismo año de 1949, Sánchez-Marroquín y sus discípulos Carlos del Río Estrada y Celsa Celis, presentan, en un brillante estudio, sus investigaciones realizadas acerca del metabolismo de *Saccharomyces Carbajali*. Entre los puntos estudiados están los siguientes: fermentación de los azúcares, asimilación de las sustancias carbonadas y de las nitrogenadas, asimilación heterotrófica del gas carbónico, temperatura y pH óptimos de la fermentación, concentración óptima de glucosa, fermentación de mieles incristalizables, utilización de harinas, y otros temas muy importantes. Obtuvieron resultados bastante interesantes, de los que deducen la posibilidad de utilizar *S. Carbajali* en la industria de fermentación alcohólica.

Con objeto de completar los estudios ya realizados sobre *S. Carbajali*, Francisco Mac Gregor Loeza, en 1950, elabora una tesis sobre la fermentación alcohólica con dicha levadura, intentando el empleo de la misma en fermentaciones industriales. Para ello utiliza mieles incristalizables e introduce el estudio de algunas sales, tratando de encontrar su acción sobre el rendimiento alcohólico. En varios cuadros y gráficas precisos, detallados y bien logrados, anota el resultado de sus minuciosas experiencias, llegando, entre otras, a las siguientes conclusiones: 1ª, *S. Carbajali* llena los requisitos necesarios para su empleo en fermentaciones industriales; 2ª, probablemente pueda emplearse con ventaja en la fermentación industrial de melazas, a juzgar por su comportamiento en las condiciones estudiadas. El trabajo es de enorme interés para la industria de fermentación de las melazas.

Desde el año de 1932 hasta 1950, en el Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México, el Dr. Manuel Ruiz Oronoz ha realizado varios estudios referentes a las levaduras, encaminados, fundamentalmente, al aislamiento de cepas puras y a la determinación sistemática de las mismas. En cada uno de esos estudios se han tratado los siguientes puntos: siembra y aislamiento a partir de los medios originales, purifica-

ción de los cultivos, obtención de cepas puras a partir de una célula, caracteres macroscópicos de los cultivos en medios sólidos y líquidos (mosto de cerveza líquido, caldo de carne, caldo de levadura glucosado y lactosado, Raulín, leche simple, leche tornasolada, mosto agar, mosto gelatina, Gorodkova, Sabouraud, papa, zanahoria, caldo agar, caldo gelatina, caldo de levadura agar, Raulín gelatina, aguamiel líquido, aguamiel agar, aguamiel gelatina, etc.), caracteres microscópicos de las células, reproducción, esporulación, germinación de las esporas, temperaturas límites y óptima para la reproducción, esporulación y formación de velos, caracteres bioquímicos (fermentación de glúcidos, acción sobre la leche tornasolada, licuefacción de la gelatina, empleo del alcohol etílico como fuente de carbono, asimilación de los azúcares y de sustancias nitrogenadas), comparación con otras levaduras y clasificación.

Hasta la fecha, el citado autor ha publicado 16 trabajos referentes a las levaduras, entre las cuales ha estudiado ocho especies nuevas (*Zygosaccharomyces Ochoterenai*, *Saccharomyces Carbajali*, *Pichia Barragani*, *Torulopsis hydromelitis*, *T. aquamellis*, *Rhodotorula incarnata*, *Torulopsis orbiculata* y *Rhodotorula martyniae-fragrantis*), dos variedades nuevas (*Rhodotorula minuta* var. *coralloides* y *Mycoderma cerevisiae* var. *alcoholica*), y cuatro especies ya conocidas (*Pichia Radaisii*, *Cryptococcus salmoneus*, *Pichia farinosa* y *Candida Krusei*). De las especies nuevas, cinco fueron aisladas del aguamiel y del pulque. Entre estos trabajos está comprendido uno que se refiere a la microbiología del aguamiel y del pulque, en el que se hace un comentario acerca de los trabajos conocidos hasta esa fecha (1936) sobre las bacterias y levaduras del aguamiel y del pulque. Asimismo, existe otro trabajo en que se estudian levaduras aisladas de varios líquidos fermentados de Cuicatlán, Oax., en donde se indica haberse aislado 15 cepas pertenecientes a los géneros *Mycoderma*, *Saccharomyces*, *Torulopsis* y *Schizosaccharomyces*, pero sin llegar a la determinación de las especies, lo cual se está haciendo en la actualidad. Es importante anotar que, de esos 16 trabajos, dos fueron elaborados con la colaboración del biólogo Teófilo Herrera, discípulo del Dr. Ruiz Oronoz. Todas las publicaciones son acompañadas por dibujos, fotografías, microfotografías y una amplia bibliografía.

Con respecto al primer trabajo publicado por el Dr. Ruiz Oronoz, en 1932, y referente al estudio de *Pichia Radaisii*, estimamos que está incompleto y debe hacerse una revisión del mismo. Esto se debió a la poca bibliografía que tuvo el autor en aquella época y a la falta de experiencia del mismo, ya que era el primer trabajo científico que emprendía.

En 1936, el mismo autor publicó como tesis para el examen profesional de Maestro en Ciencias Biológicas, un trabajo titulado: "Contribución al conocimiento de las levaduras de México." En la primera parte del mismo se indica la importancia de las levaduras, su correcta posición sistemática, breve historia de sus estudios, morfología, desarrollo, reproducción, formación de ascas y ascosporas, germinación de éstas, métodos de cultivo, de aislamiento, etc., y los procedimientos para su estudio y clasificación de las mismas, comunes en aquella época, cuando todavía el autor no conocía los trabajos de los investigadores holandeses, que vinieron a modificar dichos estudios. En una segunda parte de la tesis, se reúnen los trabajos especiales sobre levaduras ya publicados por el autor y que se refieren a las siguientes especies: *Pichia Radaisii*, *Zygosaccharomyces Ochoterrenai*, *Cryptococcus salmoneus* y *Pichia farinosa*.

Después de diez años de estudiar levaduras y con una amplia bibliografía, el Dr. Ruiz Oronoz publica el resultado de sus experiencias en una tesis titulada: "Métodos de estudio y clasificación de las levaduras. Principales levaduras del aguamiel y del pulque", que presenta en su examen profesional para optar el grado de Doctor en Ciencias Biológicas. En el estudio se anotan los siguientes temas, de los que se hace un análisis detallado: aislamiento, siembra y purificación de los cultivos de levaduras, camino que se sigue para la determinación de una levadura, caracteres macroscópicos de los cultivos en medios líquidos y sólidos, colonias gigantes, caracteres microscópicos de las células, esporulación, temperaturas límites y óptimas para la reproducción, esporulación y formación de velos, y caracteres bioquímicos. En un capítulo especial, y basándose en las publicaciones de los investigadores holandeses, indica la clasificación de las levaduras, anotando las principales claves hasta llegar a los géneros. Por último, y en forma condensada, transcribe los estudios ya hechos sobre cuatro especies nuevas de levaduras aisladas del aguamiel y del pulque. Acompaña al trabajo, la bibliografía más amplia y completa sobre levaduras que hasta la fecha se ha publicado en México. Desde la época en que se publicó esta tesis, ha prestado una gran utilidad sirviendo de guía a los alumnos que se inician en el estudio de las levaduras, especialmente a los que cursan la carrera de Químico Zimólogo en la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, del Instituto Politécnico Nacional. Numerosos dibujos y fotografías, así como varias microfotografías, ilustran las dos tesis antes mencionadas.

En un breve resumen del presente trabajo, es interesante anotar que son alrededor de 35 autores los que en México se han ocupado de estudiar

o cuando menos de citar las levaduras; de ellos, 22 con investigaciones originales (Río de la Loza, Barragán, Gaviño, Carbajal, Cordero, Guilliermond, Fernández Tagle, Varela, Navarrete Garibay, Elizondo García, Sánchez-Marroquín, Bazúa Fitch, Ortiz Vázquez, Solórzano, Gavarrón, Medellín, Alvarez, Ramírez Villegas, Del Río Estrada, Celis, Mac Gregor y Ruiz Oronoz), que han dado lugar a la publicación de 38 trabajos.

Por lo que hemos anotado en el presente trabajo, podemos indicar que, si los estudios anteriores referentes a las levaduras no son desalentadores, el futuro de los mismos se presenta muy halagador, ya que si por un lado, en el Instituto de Biología, el Dr. Ruiz Oronoz continúa sus estudios de aislamiento de cepas puras y clasificación de las mismas, y varios de sus discípulos están preparando a este respecto trabajos muy interesantes, por otro, el Dr. Sánchez-Marroquín y sus discípulos prosiguen sus importantes investigaciones bioquímicas acerca de estos microorganismos. El conjunto de estos estudios aportará, indudablemente, datos de gran interés para la Ciencia y de aplicación práctica para las industrias de la fermentación alcohólica.

#### B I B L I O G R A F I A

- ALTAMIRANO, F., 1896.—Contribución al estudio del pulque. *Anal. Inst. Méd. Nac.*, II: 52-54. México, D. F.
- BARRAGAN, J., 1870.—El *Cryptococcus* del pulque. *La Naturaleza*, 1ª Serie, I: 228-233. México, D. F.
- BULLE GOYRI y Z., A., 1934.—Proceso de elaboración de alcohol utilizando como materia prima mieles incristalizables, residuos de la fabricación de azúcar. Fermentación con levaduras aclimatadas antisépticas. Tesis. Fac. Ciencias Quím. (U. N. A. M.). México, D. F.
- CARBAJAL, A. J., 1901.—Estudio sobre el pulque, considerado principalmente desde el punto de vista zimotécnico. *Ofic. Tip. de la Sría. de Fomento*. México, D. F.
- , 1901.—Los laboratorios zimotécnicos. *Mem. Soc. "Antonio Alzate"*, XVI: 191-205. México, D. F.
- , 1903.—Los laboratorios zimotécnicos o de fermentación. *Mem. Soc. "Antonio Alzate"*, XIX: 159-168. México, D. F.
- , 1912.—La fermentación racional del pulque. *Mem. y Rev. Soc. "Antonio Alzate"*, XXXII: 219-266. México, D. F.
- CORDERO, M., 1916.—Levaduras del pulque. Aislamiento del fermento puro y seleccionado. Estudio del fermento. *Bol. Dir. Est. Biol.*, I: 561-579.
- , 1916.—Fermentación diastásica del jugo del agave. *Bol. Dir. Est. Biol.*, I: 302-308.

- , 1917.—Prolegómenos para el estudio analítico del agave. Bol. Dir. Est. Biol., II: 235-240. México, D. F.
- DE MARIA CAMPOS, M., 1917.—Las fermentaciones. Bol. Dir. Est. Biol., II: 114-118. México, D. F.
- DEL RIO ESTRADA, C., 1947.—Microbiología del pulque. Ciencia, VIII (4-5): 121-126. México, D. F.
- ELIZONDO G., A., 1946.—Microorganismos de contaminación natural que se desarrollan en el jugo fresco de naranja. Tesis. Esc. Nac. Cien. Biol. (I. P. N.). México, D. F.
- FERNANDEZ TAGLE, G., 1931.—Estudio de las vitaminas y de la fermentación viscosa en el pulque. Tesis. Fac. Cien. Quím. (U. N. M.). México, D. F.
- GAVIÑO, A., 1896.—Estudio higiénico-bacteriológico del pulque. Rev. Quím. de Anat. Pat. y Clín. Méd. Quir., I (8): 246-251. México, D. F.
- , 1901.—Microorganismos del pulque. Bol. Inst. Pat., I: 14-16. México, D. F.
- GUERRERO Y VISIERA, F., 1874.—El vino del maguey. Tesis. Escuela de Medicina. México, D. F.
- GUILLIERMOND, A., 1917.—Levaduras del pulque. Bol. Dir. Est. Biol., II: 22-28. México, D. F.
- LINDNER, P., 1926.—La importancia práctica y científica del estudio del pulque. Rev. Mex. Biol., VI (6): 221-224. México, D. F.
- , 1926.—Mejoras para el empleo del aguamiel. Rev. Mex. Biol. VI (6): 224-225. México, D. F.
- , 1932.—Resultados biológicos de un viaje de estudios a México. Investigación y Progreso, VI (6): 98-99. Madrid, España.
- LOBATO, J. G., 1884.—Estudio químico-industrial de los varios productos del maguey mexicano y análisis químico del aguamiel y del pulque. Ofic. Tip. de la Sría. de Fomento. México, D. F.
- MAC GREGOR L., F., 1950.—Fermentación alcohólica con *Saccharomyces Carbajali*. Tesis. Esc. Nac. Cienc. Biol. (I. P. N.). México, D. F.
- MAYANS VICTORIA, H., 1932.—El pulque. Sus defectos higiénicos; la vinificación del aguamiel. Tesis. Esc. Méd. Mil. México, D. F.
- MORTON GOMEZ, M., 1925.—Aprovechamiento industrial del maguey. Tesis. Fac. Cien. Quím. (U. N. M.). México, D. F.
- NAVARRETE GARIBAY, R., 1938.—Alcohol de henequén. Tesis. Esc. Nac. Cien. Quím. (U. N. A. M.). México, D. F.
- ORNELAS CARRILLO, M., 1945.—Proyecto de una fábrica de levaduras alimenticias. Tesis. Esc. Nac. Cien. Quím. (U. N. A. M.). México, D. F.
- ORTIZ VAZQUEZ, M., 1947.—Fermentación acética comparada de *Acetobacter aceti* y *Zygosaccharomyces acidificans*. Tesis. Esc. Nac. Cien. Biol. (I. P. N.). México, D. F.

- PAYNO, M., 1905.—Memoria sobre el pulque. An. Inst. Méd. Nac. VIII. Apéndice, 1-150. México, D. F.
- PAZ, E., 1945.—La continuidad en los procesos microbiológicos industriales. Ciencia, VI (7-9): 283-288. México, D. F.
- RAMÍREZ VILLEGAS, Ma. E., 1948.—Aumento de rendimiento alcohólico de destilería por adaptación de levaduras. Tesis. Esc. Nac. Cien. Biol. (I. P. N.). México, D. F.
- RIO DE LA LOZA, L., 1864.—Apuntes sobre algunos productos del maguey. Bol. Soc. Geog. y Estad., X: 531-539. México, D. F.
- RUIZ Y ANGELES, S., 1936.—Cuanteo del indol para estimar su aumento o disminución en la simbiosis: coli-bacilo y las levaduras de champagne, cerveza y pulque. Tesis. Fac. de Cien. Fis. y Mat. Instituto de Química. México, D. F.
- RUIZ GRONOSZ, M., 1932.—Estudio micológico de las zoogleas conocidas vulgarmente con el nombre de tíbicos. An. Inst. Biol., III: 183-191. México, D. F.
- , 1935.—Contribución al estudio de las levaduras de la melaza del coco común (*Cocos nucifera* L.). *Zygosaccharomyces Ochoterrenai*, sp. n. An. Inst. Biol., VI: 139-154. México, D. F.
- , 1935.—Levaduras de una dermatosis humana. *Cryptococcus salmoneus*. An. Inst. Biol., VI: 269-284. México, D. F.
- , 1936.—Levaduras del maná. *Pichia farinosa* Lindner. An. Inst. Biol., VII: 77-95. México, D. F.
- , 1936.—Nota acerca de la microbiología del aguamiel y del pulque. An. Inst. Biol., VII: 251-258. México, D. F.
- , 1936.—Contribución al conocimiento de las levaduras de México. Tesis. Facultad de Ciencias (U. N. A. M.). México, D. F.
- , 1938.—Contribución al conocimiento de las levaduras del aguamiel y del pulque. I. *Saccharomyces Carbajali*, n. sp. An. Inst. Biol., IX: 49-80. México, D. F.
- , 1939.—Contribución al conocimiento de las levaduras del aguamiel y del pulque. II. *Pichia Barragani* n. sp. An. Inst. Biol., X: 191-219. México, D. F.
- , 1940.—Contribución al conocimiento de las levaduras del aguamiel y del pulque. III. *Torulopsis hydromelitis* n. sp. An. Inst. Biol., XI: 539-554. México, D. F.
- , 1941.—Contribución al conocimiento de las levaduras del aguamiel y del pulque. IV. *Torulopsis aquamellis* n. sp. An. Inst. Biol., XII: 49-68. México, D. F.
- , 1942.—Contribución al conocimiento de las levaduras del aguamiel y del pulque. V. *Rhodotorula incarnata* n. sp. An. Inst. Biol., XIII: 1-21. México, D. F.
- , 1942.—Métodos de estudio y clasificación de las levaduras. Principales le-

- vaduras del aguamiel y del pulque. Tesis. Facultad de Ciencias (U. N. A. M.). México, D. F.
- , 1943.—Estudio de una nueva variedad de *Rhodotorula minuta* (Saito) Harrison, aislada de las escamas de la piel humana. *Rhodotorula minuta* var. coraloides n. var. An. Inst. Biol., XIV: 121-135. México, D. F.
- , 1943.—Estudio de una nueva especie de levaduras del género *Torulopsis* Berlese, aisladas de las escamas de la piel humana. *Torulopsis orbiculata* n. sp. An. Inst. Biol., XIV: 369-392. México, D. F.
- , 1947.—Estudio de una nueva especie de levadura del género *Rhodotorula* Harrison, aislada del néctar de las flores de *Martynia fragrans*. *Rhodotorula martyniae-fragrantis* n. sp. An. Inst. Biol., XVIII: 25-41. México, D. F.
- , 1949.—Estudio de una nueva variedad de *Mycoderma cerevisiae* Desmazières, aislada del jitomate (*Lycopersicum esculentum*). *Mycoderma cerevisiae* var. alcoholica. n. var. An. Inst. Biol., XX: 43-56. México, D. F.
- RUIZ ORONOZ, M., y HERRERA, T., 1948.—Levaduras, hongos macroscópicos, líquenes y hepáticas colectados en Cuicatlán. Oax.. An. Inst. Biol. XIX: 299-316. México, D. F.
- , 1950.—Estudio de *Candida Krusei* (A. Cast.) Berkhout, aislada de la epidermis del ajo (*Allium sativum*). An. Inst. Biol., XXI: 2-16. México, D. F.
- SANCHEZ M., C., IBARRA, I. M. y CAMPA, L., 1935.—Estudio de recopilación sobre el "pulque". Departamento de Salubridad Pública, México, D. F.
- SANCHEZ-MARROQUIN, A., 1948.—Levaduras de la demolición anoxibiótica de la glucosa. *Ciencia*, IX (4-6): 153-160. México, D. F.
- , 1949.—Nuevos datos acerca de la microbiología del pulque. *Mem. y Rev. Acad. Nac. Cien.*, 56 (4): 505-517. México, D. F.
- SANCHEZ-MARROQUIN, A., y BAZUA, E., 1946.—Estudios sobre la amilasa de *Endomycopsis fibuliger*. I.—Actividad amilolítica y fermentativa en diversos substratos amiláceos. *Ciencia*, VII (4-6): 119-134. México, D. F.
- SANCHEZ-MARROQUIN, A., y SOLORZANO, F., 1947.—Estudios sobre la amilasa de *Endomycopsis fibuliger*. II.—Poder amilolítico y fermentativo en cultivos mixtos. *An. Esc. Nac. Cien. Biol.*, IV (4): 311-324. México, D. F.
- SANCHEZ-MARROQUIN, A., y GAVARRON, F. F., 1947.—Estudios sobre la amilasa de *Endomycopsis fibuliger*. III.—Principales características de las preparaciones enzimáticas crudas y purificadas. *An. Esc. Nac. Cien. Biol.*, IV (4): 325-338. México, D. F.
- SANCHEZ-MARROQUIN, A., MEDELLIN, E., y ALVAREZ, C., 1948.—Influencia de la selección de levaduras en vinificación. *Rev. Soc. Mex. Hist. Nat.*, IX: 199-214. México, D. F.
- SANCHEZ-MARROQUIN, A., y GAVARRON, F. F., 1948.—Estudios sobre la ami-

lasa de *Endomycopsis fibuliger*. IV.—Características de su acción sobre el almidón comercial. An. Esc. Nac. Cien. Biol., V (1-2): 7-12. México, D. F.

SANCHEZ-MARROQUIN, A., DEL RIO, C. y CELIS, C., 1949.—Algunos aspectos metabólicos de *Saccharomyces Carbajali*. An. Inst. Biol., XX (1-2): 27-42. México, D. F.

SANCHEZ MARTINEZ, D., 1932.—Contribución al estudio bacteriológico de la flora anaeróbica del pulque. Tesis. Fac. Cien. Quím. (U. N. A. M.). México, D. F.

SEGURA, J. C., 1891.—El maguey. Memoria sobre el cultivo y beneficio de sus productos. Ofic. Tip. de la Sría. de Fomento. México, D. F.

STERN, J., 1946.—La fermentación del café. Rev. Soc. Mex. Hist. Nat., VII (1-4): 25-34. México, D. F.

VARELA, G., 1934.—Faringitis por levaduras. Rev. Mex. Biol., XV (5): 119-120. México, D. F.