

ESTUDIO DE UNA LEVADURA AISLADA DE LA FERMENTACION DEL CAFE (COFFEA ARABIGA)

CANDIDA MYCODERMA (REESS) LODDER Y KREGER-VAN RIJ

Por MANUEL RUIZ ORONoz
y M^a DEL CARMEN ORTEGA,
del Instituto de Biología.

El año de 1938, el profesor Francisco Villagrán Prado nos trajo, del Estado de Chiapas, un tubo que contenía pulpa en fermentación del grano de café, la cual tomó, según informes que nos proporcionó el Dr. Eduardo Caballero, de una finca cafetera llamada "Finca Guatemó", que en aquella época se encontraba cerca de la ciudad de Tapachula, en las faldas del Tacaná.

Haciendo una observación microscópica del contenido de dicho tubo, se encontraron numerosas bacterias y levaduras. Con objeto de obtener cultivos de levaduras, se eliminaron las bacterias por resiembras sucesivas en mosto de cerveza líquido, adicionado de ácido láctico. Eliminadas las bacterias, se obtuvieron varias cepas puras de levaduras recurriendo al aislamiento por el método de Lindner en cámara húmeda. Las diversas cepas obtenidas, después de estudiar sus caracteres fundamentales, resultaron todas ellas pertenecer a la misma especie cuyo estudio se presenta en este trabajo.

Antes de presentar el estudio de esta levadura, estimamos interesante dar algunas ideas breves acerca del proceso de fermentación del café, las cuales hemos tomado, en forma general y esencial, del trabajo de J. Stern, citado en la bibliografía que se anota al final.

La obtención del llamado café "suave" o "lavado", el más apreciado en el comercio, requiere varias operaciones, entre las cuales se encuentra un proceso de fermentación, durante el cual se solubiliza el mucilago que permanece adherido al endocarpio del grano después de la operación del despulpe.

Esta fermentación se efectúa en tanques especiales llamados "pilas" en los cuales se coloca el grano de café desulpado.

En este caso, la fermentación principal es la péctica, que se efectúa por la acción de enzimas que se encuentran en la misma pulpa del café y por las que secretan los innumerables microorganismos que se desarrollan durante la fermentación, y que provienen del aire, del agua, o se encuentran adheridos a la superficie del fruto del café.

Debido a tan numerosos microorganismos, se efectúan, además, otras fermentaciones secundarias como la alcohólica y la láctica, y a veces la acética y la butírica. Las dos primeras no perjudican al grano de café, pero sí lo pueden hacer las dos últimas, las que felizmente pueden evitarse si el proceso se lleva a efecto en buena forma.

Las fermentaciones alcohólica y láctica, según Stern, "permiten aumentar la velocidad del proceso principal, contribuyendo al calentamiento de la masa en las pilas, y colocando en esta forma a las enzimas pécticas cerca de su temperatura óptima".

Posiblemente la fermentación alcohólica se efectúa por la presencia de bacterias y levaduras; sin embargo, la levadura que estudiamos no interviene en el proceso, puesto que todas las pruebas que hicimos a este respecto resultaron negativas.

CARACTERES MACROSCOPICOS DEL CULTIVO EN MEDIO LIQUIDO

Caldo de extracto de malta (Malt extract broth, Difco) pH: 4.7

Temperatura: 25° C.

Anillo: a las 24 horas se inicia la formación de un anillo blanquizco, apareciendo algunas colonias aisladas muy transparentes que se pegan a las paredes del tubo. A las 48 horas las colonias son más numerosas, aunque el anillo no es completo. A los 4 días se integra un anillo completo, de 7 a 8 mm. de altura, grueso, opaco, plegado y de un color blanco con un ligero tinte amarillento. A los seis días se torna más grueso, plegado y opaco, y alcanza de 12 a 13 mm. de altura; en la región inferior es blanco amarillento y en la superior blanco. Así se conserva por muchos días aunque lentamente se hace más delgado y transparente.

Velo: a las 24 horas se notan pequeños islotes de velo flotando en la superficie del medio, en forma de diminutas colonias blanquizcas. A las 72 horas el velo casi se ha completado, mostrando un aspecto plegadizo

y granuloso, pues resaltan en la superficie pequeñas granulaciones blanquizcas. A los 4 días está bien formado, siendo muy plegado, opaco, grueso, sin brillo y del mismo color que el anillo. A los seis días es más grueso y plegado, y de color blanco amarillento. A los 20 días se torna tan grueso, que se introduce en el medio hasta una profundidad de 12 a 15 mm., en donde muestra un color moreno amarillento, mientras la región superficial es moreno clara y se conserva muy plegada. A los 30 días comienzan a caer, al fondo del tubo, fragmentos del velo y éste se va desintegrando lentamente.

Sedimento: A las 24 horas no se forma; a las 48 horas inicia su formación y a los 4 días su desarrollo es muy escaso, quedando lo mismo hasta los 20 días y siendo de color moreno muy claro. Después de los 30 días, al desprenderse fragmentos del velo, se forma un sedimento abundante de color moreno amarillento.

Fermentación: no se observa.

Turbidez: no existe; el medio se conserva siempre muy límpido y transparente.

CARACTERES MACROSCOPICOS DE LOS CULTIVOS EN MEDIOS SOLIDOS

CULTIVOS EN PLACA

Mosto agar (Wort agar, Difco) pH: 4.8

Temperatura: 25° C.

Edad del cultivo: 12 días.

Forma: circular; así se conserva hasta después de los 40 días.

Color: blanco, con un tinte ligeramente moreno o amarillento en su mayor parte; en la periferia se nota una delgada zona de color blanco grisáceo. A los 35 días, la parte central rugosa es de color moreno con un ligero tinte amarillento, y la periferia, que es lisa, es de color moreno claro.

Superficie: muy rugosa; la zona periférica es lisa y ligeramente granulosa. A los 35 días la zona central se conserva rugosa y la periferia lisa con algunas estrías radiales muy finas.

Elevación: en la periferia es plana y en el centro convexa; así se conserva durante todo el tiempo que se tiene el cultivo en observación (40 días).

Bordes: en las colonias bien desarrolladas son auriculados y lobulados; en colonias pequeñas se notan ligeramente ondulados; así se conservan por muchos días.

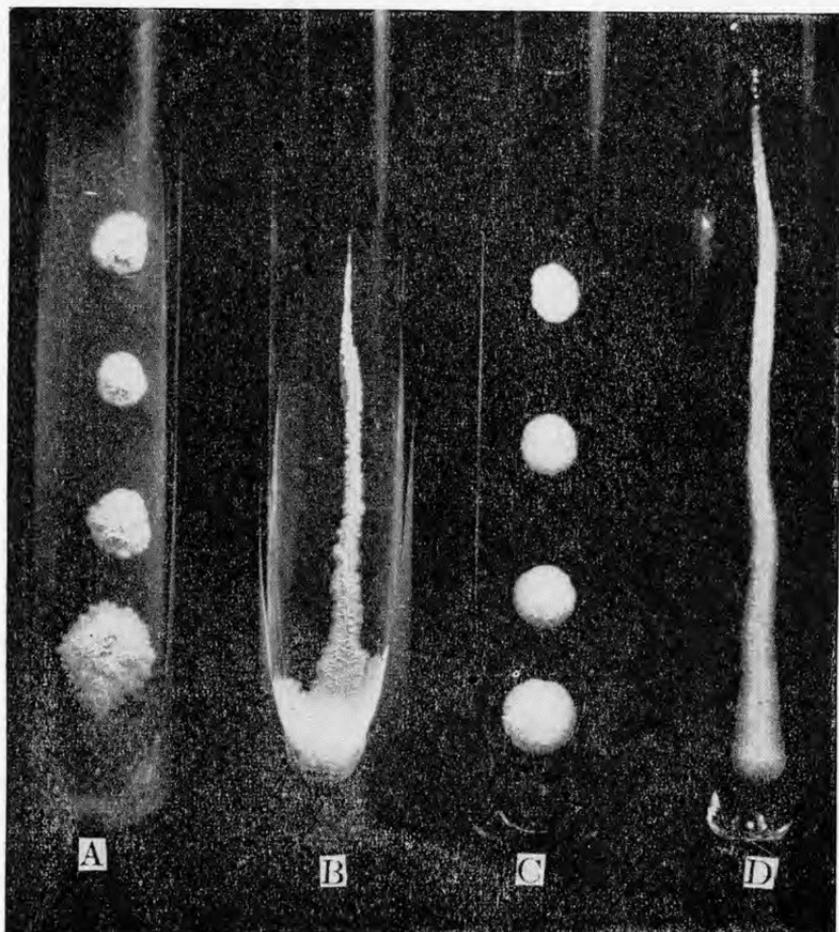


Fig. 1. Cultivos en placa y en estria de *Candida mycoderma*. A y B, mosto agar (30 días); C y D, mosto gelatina (25 días).

Caracteres ópticos: opaco en el centro y ligeramente translúcido en la periferia; a los 40 días están con el mismo aspecto.

Estructura interna: amorfa.

Consistencia: cremosa.

Brillo: la mayor parte de la colonia no tiene; en la periferia es muy ligero.

Dimensiones: en los tubos se obtienen colonias desde 6 mm. las más pequeñas, hasta 14 mm. las más grandes.

Acción sobre el medio: ninguna.

Mosto gelatina (Malt extract broth con 15% de gelatina) pH: 5.0

Temperatura: 20-21° C.

Edad del cultivo: 12 días.

Forma: circular.

Color: blanco bastante puro; a los 30 días es blanco con un ligero tinte grisáceo.

Superficie: muy rugosa; con una lente de aumento se nota con numerosas estrías radiales muy finas.

Elevación: ligeramente convexa.

Bordes: finamente ondulados si se observan con lente de aumento, pues a simple vista se notan enteros.

Caracteres ópticos: opaco.

Estructura interna: amorfa.

Consistencia: cremosa.

Brillo: no tiene.

Dimensiones: 5 a 6 mm. de diámetro.

Acción sobre el medio: ninguna.

CULTIVOS EN ESTRIA

Mosto agar pH: 4.8

Temperatura: 25° C.

Edad del cultivo: 12 días.

Forma: equinulada; la parte inferior de la colonia es bastante extendida y la extremidad termina muy delgada.

Superficie: muy rugosa.

Elevación: ligeramente convexa.

Bordes: ondulados y ligeramente lobulados.

Color: blanco con un leve tinte moreno o amarillento, más acentuado a lo largo de la parte media; a los 35 días el color es moreno claro en toda la colonia.

Caracteres ópticos: el cultivo es opaco en el centro y ligeramente translúcido en la periferia.

Estructura interna: amorfa.

Consistencia: cremosa.

Brillo: no existe en la mayor parte del cultivo; en los bordes se nota un brillo muy ligero.

Acción sobre el medio: ninguna.

Mosto gelatina pH: 5.0

Temperatura: 20-21° C.

Edad del cultivo: 10 días.

Forma: esquinulada.

Superficie: finamente rugosa; a los 30 días se conserva en el mismo estado, y observando con una lente de aumento, se notan numerosas y muy finas estrías dispuestas paralelamente del centro a la periferia.

Elevación: ligeramente convexa.

Bordes: a simple vista se notan enteros; con lente de aumento se observan finamente ondulados. A los 30 días se ven ondulados a simple vista y aserrados con lente de aumento.

Color: blanco bastante puro; a los 30 días el color es blanco grisáceo.

Caracteres ópticos: el cultivo en general es opaco, y en algunos sitios levemente translúcido.

Estructura interna: amorfa.

Consistencia: cremosa.

Brillo: no hay.

Acción sobre el medio: ninguna.

CULTIVOS EN PICADURA

En mosto agar, a los 12 días y a 25° C., el desarrollo en la superficie es bastante extenso y cubre casi todo el medio, siendo el cultivo muy semejante en sus caracteres a los obtenidos en placa. A lo largo del piquete el crecimiento es escaso, y sólo se desarrolla en la región superior. Las colonias son ensanchadas y cortas, opacas, con bordes ondulados de los que salen filamentos muy finos apenas visibles a simple vista. A los 35 días los caracteres son semejantes, aunque en la región inferior, hasta el fondo del tubo, se nota un crecimiento de aspecto vellososo y muy transparente.

En mosto gelatina el crecimiento en la superficie es regular, formándose colonias semejantes a las obtenidas en los cultivos en placa. A lo largo del piquete el crecimiento es muy escaso, de aspecto vellososo, transparente y de color blanco. En la misma forma se conserva hasta después de los 40 días.

CARACTERES DE LAS COLONIAS GIGANTES

Mosto agar pH: 4.8

Temperatura: 25° C.

Edad del cultivo: 36 días.

Forma: un poco rizada, con lóbulos en la periferia.

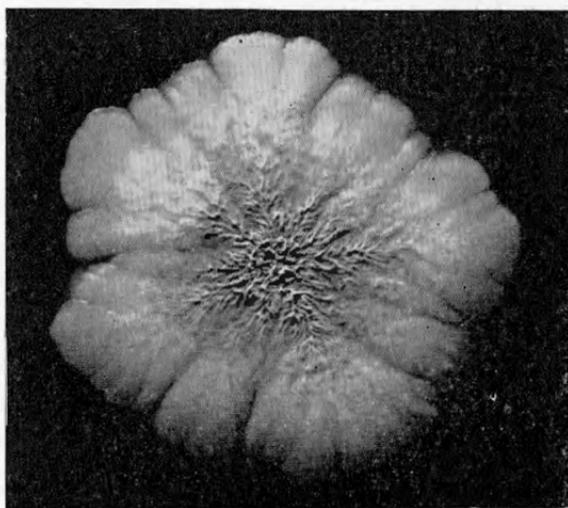


Fig. 2. Colonia gigante de *Candida mycoderma* en mosto agar (36 días).

Superficie: en el centro bastante rugosa; las rugosidades tienen aspecto arborescente. En una faja periférica bastante ancha, la superficie es lisa y está provista de numerosas estrías más o menos profundas dispuestas radialmente. A los 50 días la parte rugosa se ha reducido y en cambio la región lisa se torna más amplia.

Elevación: levemente convexa; sobre todo la parte central.

Bordes: ondulados.

Color: en la región central, que es rugosa, el color es moreno claro; en la parte periférica, de superficie lisa, blanco con un ligero tinte grisáceo. A los 50 días el centro es moreno, sigue después una faja circular blanca ligeramente grisácea y después otra faja periférica muy delgada que es moreno clara.

Caracteres ópticos: en general el cultivo es opaco; sin embargo, a lo largo de las estrías periféricas, es translúcido.

Consistencia: cremosa.

Brillo: en el centro no existe; en la parte periférica de superficie lisa es muy leve.

Estructura interna: en la parte central es amorfa; en la región periférica se nota ligeramente filamentosas.

Dimensiones: 23 mm. de diámetro; a los 50 días tiene 35 mm.

Mosto gelatina pH: 5.0

Temperatura: 20-21° C.

Edad: 30 días.

Forma: circular y un poco irregular.

Superficie: ligeramente rugosa; las rugosidades son bastante finas y se disponen radialmente del centro a la periferia. A los 50 días las rugosidades son aún más finas, apenas visibles a simple vista, y por lo mismo la superficie se nota casi lisa.

Elevación: plana.

Bordes: finamente aserrados; a los 50 días se tornan un poco ondulados.

Color: blanco bastante puro; a los 50 días es blanco con un leve tinte grisáceo.

Caracteres ópticos. el cultivo es ligeramente translúcido.

Consistencia: cremosa.

Brillo: no tiene.

Estructura interna: filamentososa.

Dimensiones: 13 mm. de diámetro; a los 50 días 17 mm.



Fig. 3. Colonia gigante de *Candida mycoderma* en mosto gelatina (30 días).

CARACTERES MICROSCOPICOS DE LAS CELULAS

Caldo de extracto de malta pH: 4.7

Temperatura: 25° C.

Edad del cultivo: 24 horas.

Forma de las células: ovals, largo-ovals y cilíndricas; a los 25 días las formas son muy variadas, pues además de las anteriores las hay alargadas y muy delgadas que forman pseudomicelios; ovals pequeñas, en forma de huevo y algunas circulares; sin embargo, predominan siempre las ovals, largo-ovals y cilíndricas.

Agrupamiento: la mayoría de las células se encuentran aisladas; algunas forman cadenas de 4 a 6 células. A los 25 días abundan las células que se unen formando pseudomicelios, sobre todo las cilíndricas y las alargadas; unas y otras tienen blastosporas.

Citoplasma: transparente, hialino y sin granulaciones; de los 25 días en adelante aparecen algunas células con citoplasma oscuro y granuloso.

Vacuolas: la mayoría de las células poseen una gran vacuola, aunque hay muchas sin este elemento celular; en la misma forma se notan aún a

los 40 días. A los 55 días muy pocas células tienen una vacuola pequeña o grande.

Grasa: la mayor parte de las células tienen por lo menos un glóbulo pequeño y muy refringente; otras células muestran dos, tres o más glóbulos.

Reproducción: la mayoría de las células muestran brotes unipolares; las hay también con dos brotes en un polo o con un brote en cada polo, y muy pocas con tres brotes en un polo o laterales. Las que forman pseudo-

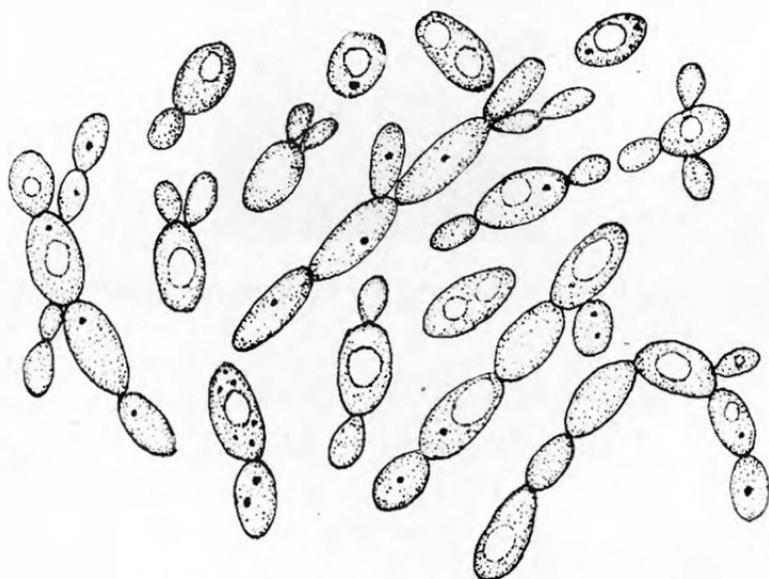


Fig. 4. Células de *Candida mycoderma* en caldo de extracto de malta (24 horas).

micelios dan blastosporas. A los 8, 15, 20 y 30 días, todavía hay células con brotes, pero después ya se notan muy pocas, y tienden a aumentar los pseudomicelios con blastosporas.

Ascas y ascosporas: no se formaron durante todo el tiempo que se tuvo en observación el cultivo (60 días).

Dimensiones: son muy variadas; las más pequeñas $(2-4) \times (4-8)$ micras; las hay más grandes, $(2-4) \times (5-12)$ micras, y algunas son más anchas, $(3-5) \times (5-12)$ micras. Después de los 25 días, en los pseudomicelios, que son más abundantes, se encuentran células alargadas y delgadas que tienen de 15 a 20 micras de longitud por 2 a 3 de anchura.

Mosto agar pH: 4.8

Temperatura: 25° C.

Edad del cultivo: 48 horas.

Forma de las células: la mayoría largo-ovales; otras ovales, y pocas cilíndrico-alargadas. A los 10 días son principalmente largo-ovales y cilíndrico-alargadas, aunque también existen ovales y aparecen algunas circulares. Después de los 25 días, además de las formas anteriores, existen unas células alargadas y muy delgadas.

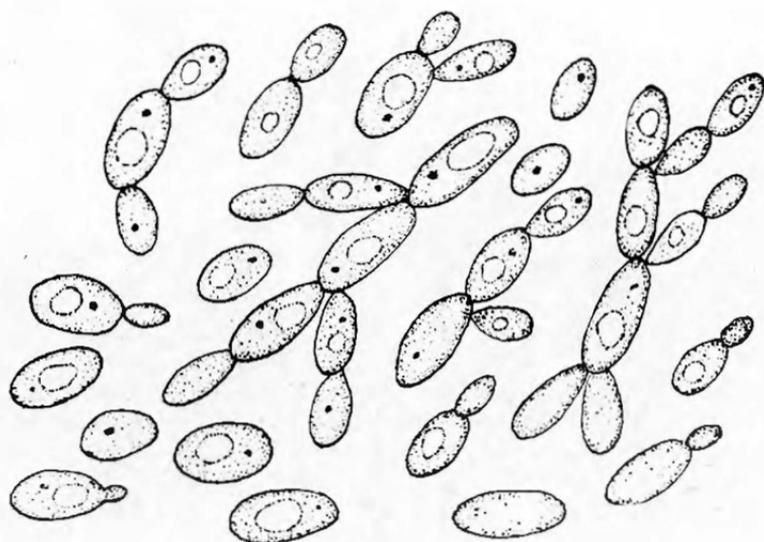


Fig. 5. Células de *Candida mycoderma* en mosto agar (48 horas).

Agrupamiento: la mayor parte de las células están aisladas unas de otras; algunas forman cortas cadenas de 3 a 5 células, en las cuales se notan brotes laterales. A los 10 días el número de cadenas aumenta y se tornan más largas, o sea con mayor número de células, siendo éstas principalmente largo-ovales y cilíndricas. A los 30 días se forman largos pseudomicelios con numerosas células que tienen blastosporas.

Citoplasma: muy hialino, transparente y sin granulaciones. A los 10 días las células muestran numerosas granulaciones oscuras y así se conserva por mucho tiempo.

Vacuolas: en casi todas las células se nota una vacuola pequeña o grande poco visible, pues apenas destaca del citoplasma. A los 10 días la mayoría de las células tienen una gran vacuola, o dos y tres pequeñas, y muy pocas sin esta formación. En cambio, a los 30 días, muy pocas células poseen vacuolas, pues en la mayor parte no existen.

Grasa: existe un pequeño glóbulo de grasa en la mayoría de las células; a los 10 días uno o dos glóbulos, y a los 30 días hay células que los tienen y otras sin ellos.

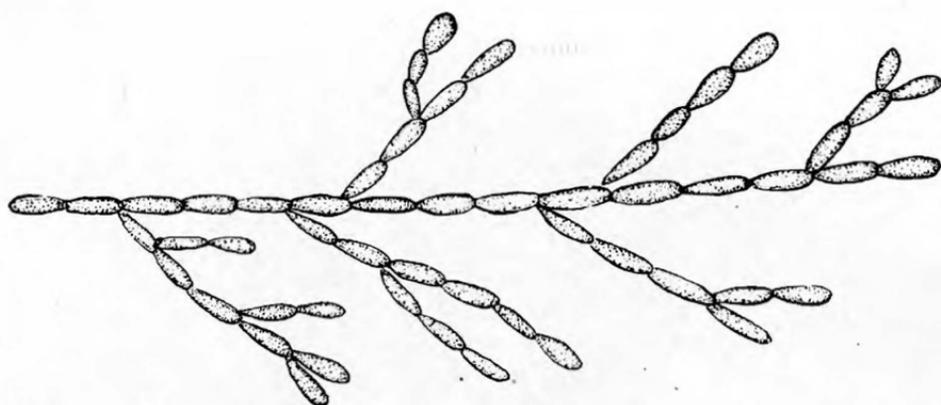


Fig. 6. Células de *Candida mycoderma* formando pseudomicelio. Cultivo en mosto agar (30 días). (Las células se han dibujado más pequeñas con respecto a las de los dibujos anteriores por necesidades de impresión.)

Reproducción: casi todas las células muestran brotes unipolares; pocas con dos brotes en un polo. Después de los 10 días disminuyen las células con brotes unipolares, para aumentar los pseudomicelios con blastosporas.

Ascas y ascosporas: no se forman.

Dimensiones: ovales: (3-5) \times (5-8) micras; largo-ovales: (3-5) \times (9-11) micras; las cilíndrico-alargadas (3-4) \times (12-15) micras.

Mosto gelatina pH: 5.0

Temperatura: 20-21° C.

Edad del cultivo: 48 horas.

Forma de las células: largo-ovales principalmente; las hay también

ovales y pocas cilíndrico-alargadas; a los 30 días las células ovales se hacen más abundantes, pero siguen predominando las largo-ovales.

Agrupamiento: las células se observaron en su gran mayoría aisladas unas de otras; hay muchas, sin embargo, que forman cortas cadenas de 3 a 6 células. A los 10 días, se forman pseudomicelios con numerosas células largo-ovales o cilíndricas que tienen blastosporas.

Citoplasma: transparente, hialino y sin granulaciones.

Vacuolas: la mayor parte de las células tienen una gran vacuola; a los 10 días, por el contrario, son pocas las que tienen este elemento. A los 30 días vuelven a aparecer las vacuolas en las células.

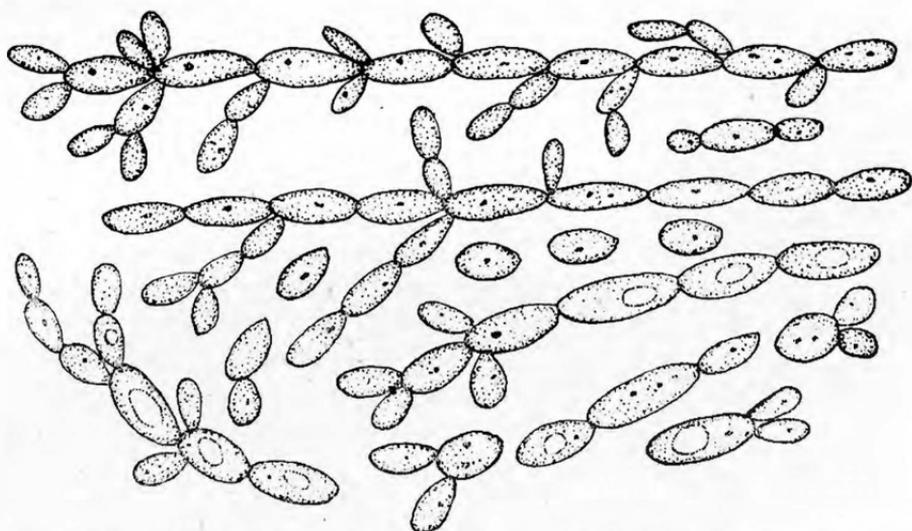


Fig. 7. Células de *Candida mycoderma* en mosto gelatina (10 días). Algunas forman pseudomicelios.

Grasa: en casi todas las células aparece un pequeño glóbulo; en otras dos o tres glóbulos.

Reproducción: la mayoría de las células tienen brotes unipolares; algunas con dos brotes en un polo y muy pocas con tres; en los pseudomicelios existen blastosporas.

Ascas y ascosporas: no se forman.

Dimensiones: largo-ovales: $(3-5) \times (8-10)$ micras; ovales: $(3-4) \times (4-6)$ micras; cilíndrico-alargadas: $(3-4) \times (10-14)$ micras.

ESPORULACION

Para lograr la esporulación se recurrió a muy distintos métodos y medios de cultivo recomendados al respecto, siendo los resultados completamente negativos en todos los casos.

De todos los cultivos que se hicieron en diversos medios, llamaron la atención los efectuados en fragmentos de zanahoria, en los cuales el desarrollo fué muy intenso y rápido, aún más que en mosto agar, obteniéndose colonias en estría bastante grandes, de superficie muy rugosa, color blanco puro, bordes ondulados y recortados, elevación convexa, sin brillo y de consistencia un poco membranosa. Asimismo, es interesante anotar que es el cultivo en donde se forman mayor cantidad de pseudomicelios con blastosporas.

CARACTERES BIOQUIMICOS

Licuefacción de la gelatina: después de 60 días a 20-21° C. es negativa.

Fermentación de los azúcares: siguiendo el método de Langeron y Guerra, se experimentó con los siguientes azúcares: dextrosa, levulosa, manosa, galactosa, sacarosa, maltosa, lactosa y rafinosa, siendo los resultados completamente negativos.

Asimilación de los azúcares:

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

Asimilación de substancias nitrogenadas:

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

Alcohol etílico como única fuente de carbono: a los 5 días, y a 25° C., se obtiene un crecimiento regular en forma de velo y anillo. El velo es muy delgado y transparente y lo mismo sucede con el anillo que, aunque completo, es un poco irregular. El velo cae fácilmente al fondo del tubo.

Peptonización y coagulación de la leche: negativas.

Cultivo en leche litmus: no se observa ninguna alteración de la leche.

Desdoblamiento de la esculina: positivo. Se usó la esculina y no la arbutina, porque ésta no fué posible conseguirla en el comercio.

CLASIFICACION

De acuerdo con la clasificación de Lodder y Kreger-Van Rij, publicada en su último libro (*The Yeasts. A Taxonomic Study*, 1952), pertenece la levadura que estudiamos al orden *Cryptococcales* y a la familia *Cryptococaceae*, debido a que no forma esporas de ningún tipo, o sea por ser una levadura anascosporógena. Se sitúa dentro del género *Candida* por tener un pseudomicelio más o menos desarrollado, formar blastosporas, dar brotes laterales, constituir sedimento, anillo y velo en un medio líquido, y por su desasimilación oxidativa.

Conforme a la clave de las especies de los mismos autores, corresponde a la especie *Candida mycoderma* (Reess) Lodder y Kreger-Van Rij, por los siguientes caracteres: no efectúa fermentación, asimila únicamente la glucosa, forma inmediatamente una película o velo en cultivo de caldo de extracto de malta (malt extract broth), tiene células ovales y cilíndricas, no forma verdadero micelio y no coagula la leche.

Si existen caracteres diferenciales entre la levadura que estudiamos y la especie citada, los cuales pueden notarse en el trabajo que presentamos, esos caracteres son tan leves y de tan poca importancia, que no ameritan ni establecer una nueva variedad.

Con objeto de dar una idea completa acerca de lo indicado anteriormente, insertamos a continuación un cuadro comparativo de las leves diferencias que existen entre las dos cepas de levaduras.

Candida mycoderma (Reess).
Lodder y Kreger-Van Rij.

Candida mycoderma aislada de la
fermentación del café.

Ocasionalmente se forman células incurvadas en extracto de malta.

No se forman células incurvadas en caldo de extracto de malta.

Dimensiones de las células en extracto de malta: las más pequeñas (1.7-4) × (4.3-9.5) micras; a me-

Dimensiones de las células en caldo de extracto de malta: las más pequeñas (2-4) × (4-8) micras; las hay

nudo son más largas (1.7-4) \times (5.5-12 ó hasta 18) micras. Pueden formarse células más anchas (3-5) \times (4.5-10 y hasta 13) micras.

Después de algún tiempo se forma un sedimento.

Las cepas que forman película arrugada, muestran en malta agar un cultivo en estría opaco, generalmente plano, a veces levantado, superficie parcial o totalmente arrugada, margen lobulado y color gris amarillento o gris moreno.

No hay fermentación o sólo una fermentación muy débil de la glucosa.

Crecimiento en leche litmus: no hay coagulación, el color puede cambiar a azul.

Desdoblamiento de la arbutina: negativo.

más largas (2-4) \times (5-12) micras, y algunas más anchas (3-5) \times (5-12) micras. Después de 25 días, en los pseudomicelios hay algunas células de (2-3) \times (15-20) micras.

A las 48 horas se inicia la formación de un sedimento; a los 4 días su desarrollo es muy escaso.

En mosto agar el cultivo en estría es opaco, ligeramente convexo, superficie muy arrugada, bordes ondulados y ligeramente lobulados, y color blanco con un ligero tinte moreno o amarillento.

No hay fermentación en ningún caso.

Crecimiento en leche litmus: no hay coagulación; el color no cambia a azul.

Desdoblamiento de la esculina: positivo. (Se usó la esculina porque la arbutina no se consiguió en el comercio.)

Por la comparación anterior se observa que la única diferencia ostensible es lo referente al desdoblamiento de la esculina, que en nuestra cepa ha sido positivo, y en la cepa estudiada por Lodder y Kreger-Van Rij es negativo. Pero hay que tomar en cuenta que estos investigadores utilizaron arbutina y nosotros empleamos esculina, ya que nos fué imposible conseguir la primera.

RESUMEN

En el presente trabajo se estudia una cepa de *Candida mycoderma* (Rees) Lodder y Kreger-Van Rij, aislada de la pulpa en fermentación del grano de café (*Coffea arabica*). Sus caracteres principales son:

En caldo de extracto de malta produce velo y anillo muy desarrollados y un escaso sedimento; en mosto agar el cultivo en placa es circular, de color blanco con ligero tinte moreno o amarillento, de superficie muy rugosa, elevación plana y en el centro convexa, bordes auriculados y lobulados, opaco, cremoso y sin brillo. Las células son ovals, largo-ovales y cilíndricas; asimismo se forman pseudomicelios con blastosporas; se reproducen por brotes unipolares principalmente; las hay con dos brotes en un polo o con un brote en cada polo, y muy pocas con tres brotes en un polo o laterales. Por dimensiones tienen, las más pequeñas $(2-4) \times (4-8)$ micras; las hay más largas $(2-4) \times (5-12)$ micras, y algunas más anchas $(3-5) \times (5-12)$ micras. En los pseudomicelios se encuentran células de $(2-3) \times (15-20)$ micras.

No forma esporas, no licúa la gelatina después de los 60 días, y no fermenta los azúcares. Asimila dextrosa (L. M.), sulfato de amonio, peptona, asparagina y urea; no asimila el nitrato de potasio. Aprovecha el alcohol etílico como fuente de carbono dando un desarrollo regular en forma de velo y anillo. No peptoniza ni coagula la leche, y tampoco provoca alteración en la leche litmus; el desdoblamiento de la esculina es claramente positivo.

BIBLIOGRAFIA

- CIFERRI, R. and REDAELLI, P., 1929.—Studies on the Torulopsidaceae. *Annals Mycologici*. Vol. XXVII, pp. 243-295.
- , 1935.—Contribuzioni alla sistematica della Torulopsidaceae. *Archiv. Mikrobiol.* Vol. 6, pp. 9-72.
- DIDENS, H. A., und LODDER, J., 1942.—Die Anaskosporogenen Hefen. Zweite Hälfte. North-Holland Publishing Company. Amsterdam, pp. 1-511.
- GUILLIERMOND, A., 1920.—The Yeasts. John Wiley and Sons. Inc. New York, pp. 1-424.
- , 1928.—Clef dichotomique pour la détermination des levures. Libraire Le François, Paris, pp. 1-124.
- , 1937.—La Sexualité. Le Cycle de Développement, la Phylogénie et la Classification des Levures. Masson et Cie. Editeurs. Paris, pp. 1-72.
- HENRICI, A. T., 1941.—The Yeasts: Genetics, Cytology, Variation, Classification and Identification. *Bacteriological Reviews*, vol. 5, pp. 97-179.
- KAYSER E., 1905.—Les Levures. Masson et Cie. Editeurs. Paris, pp. 1-212.
- LODDER, J., 1934.—Die Anaskosporogenen Hefen. Erste Hälfte. N. V. Noord-Hollandsche Uitgeversmaatschappij. Amsterdam, pp. 1-256. _

- LODDER, J., y KREGER-VAN RIJ, N. J. W., 1952.—The Yeasts. A Taxonomic Study. Interscience Publishers, Inc. New York, pp. 1-713.
- SKINNER, C. E., 1947.—The Yeast-like fungi: *Candida* and *Brettanomyces*. *Bacteriological Reviews*, vol. 11, pp. 227-274.
- SKINNER, C. E., EMMONS, CH. W. and TSUCHIYA, H. M., 1947.—*Henrici's Molds, Yeasts, and Actinomycetes*. John Wiley and Sons, Inc., New York, pp. 1-409.
- STANTIAL, H., 1935.—The sporulation of Yeasts. *Trans. Roy. Soc. Canada*, 29, Sect. III, pp. 175-188.
- STELLING-DEKKER, N. M., 1931.—*Beitrage zu einer monographie der Hefearten. I Teil. Die Sporogenen Hefen*. Amsterdam, pp. 1-547.
- STERN, J., 1946.—La fermentación del café. *Rev. Soc. Méx. Hist. Nat.* VII (1-4): 25-34. México, D. F.