
SIGNIFICADO Y CONCEPTO DEL TERMINO "LEVADURAS". PRIMEROS ESTUDIOS Y METODOS DE AISLAMIENTO DE LAS MISMAS

MANUEL RUÍZ ORONoz
Discurso inaugural como Vicepresidente de la
Sociedad en 1953.

"Ninguna clase de microorganismos —dice Tanner, ilustre bacteriólogo norteamericano— ha estado más íntimamente asociada con el progreso y el desarrollo de la raza humana como las levaduras".

Mucha verdad encierran efectivamente estas palabras de Tanner, pues todos sabemos que desde los tiempos más remotos, al hombre le eran familiares las fermentaciones efectuadas por las levaduras, aunque en aquella época no llegó a conocer estos microorganismos, ni a explicar los cambios observados en dichos fenómenos.

La historia nos indica con precisión, que los egipcios y los griegos, muchos años antes de nuestra era, se dedicaban al cultivo de la vid y a la fermentación del jugo de uva, mientras que la fabricación de la cerveza se practicaba entre los germanos, los galos y los españoles. Por otro lado, la influencia de estas bebidas alcohólicas, que tienen lugar por efecto de las levaduras, en la economía y en la civilización de dichos pueblos, es bien conocida por todos.

Desde los interesantes estudios de Pasteur sobre la fermentación alcohólica, las levaduras no han dejado de asumir, cada vez más, un papel muy importante en las actividades humanas. Las clásicas investigaciones de Pasteur, seguidas por las no menos importantes de Hansen, de Buchner, y de otros ilustres sabios, han mostrado, desde esa época, el provecho que puede resultar de un estudio metódico de las diferentes especies de levaduras, especialmente en sus características fisiológicas y bioquímicas, con objeto de aplicarlo en las industrias de fermentación. Desde hace muchos años, los beneficios que obtienen las citadas industrias, por el uso de cultivos puros y especies seleccionadas, son claramente ostensibles y su futuro se muestra muy brillante. Por otro lado, el conocimiento de las levaduras que causan efectos desastrosos en los productos de la fermentación ha sido de gran utilidad, pues se ha llegado a eliminarlas. Asimismo, las investigaciones de los últimos años, han mostrado la influencia de estos microorganismos sobre ciertas enfermedades del hombre y los animales. A partir de la segunda mitad del siglo pasado, en que las levaduras fueron conocidas en sus principales características, han adquirido enorme importancia y hoy, más que nunca, se estudian en todos sus aspectos, no sólo con objeto de encontrarles más amplias aplicaciones en las industrias, en la medicina, en la agricultura, en la alimentación del hombre y de los animales, etc., sino también para desentrañar, desde el punto de vista estrictamente científico, los fenómenos inherentes a su vida, cuyo conocimiento ha influido y puede aún influir en el futuro, ampliando el campo de ciencias tan interesantes como la fisiología, la biología, la genética, la bioquímica, y otras más.

Las primeras preguntas que se plantean a una persona que trata sobre levaduras son las siguientes: ¿qué significa el término levadura? y, ¿qué son las levaduras?

En cuanto a la primera de dichas preguntas, podemos indicar que esta palabra la derivan algunos autores del latín *levar* y otros de *levator* y de *levatus*, términos todos ellos que en latín significan, levantar, levantado, alzado, elevado, etc. Cualesquiera que sea su derivación, podemos indicar con precisión, que la palabra "levadura" se aplicó por primera vez a la porción de masa fermentada que se mezcla con otra para hacerla fermentar y lograr así una de las operaciones en la elaboración del pan, o sea, el levantamiento de la masa.

Aunque el nombre de "levadura" se refería primitivamente a la del pan, se aplicó después a toda masa destinada a levantar o fermentar los líquidos azucarados, y por lo mismo se dio este mismo nombre a la masa que hacía fermentar a la cerveza y a los vinos.

Si se examinan todos los términos antiguos para la palabra "levadura", en varios idiomas, se hará constar que todos han sido relacionados directamente con el proceso de la fermentación de los líquidos azucarados.

En aquella época, cuando aun no se había descubierto que las células de la levadura eran los agentes de la fermentación, los nombres se aplicaban a los hechos característicos de este proceso; y esos nombres fueron después transferidos a los organismos que intervienen en el fenómeno.



Manuel Ruíz Oronoz, Vicepresidente de la Sociedad en 1952-53.

La primera manifestación visible de la fermentación alcohólica de los líquidos azucarados, es el desprendimiento del gas carbónico, lo que conduce a la formación de una espuma y, al mismo tiempo, a la elevación de partículas sólidas que son llevadas a la superficie del medio. Finalmente, al terminar el proceso, se forma un sedimento.

Una referencia a todos estos fenómenos se encuentra claramente en las palabras usadas para el término "levadura" en varios idiomas. Así, el significado literal de la palabra "levadura", en holandés "gist", es espuma,

significación que se conserva también en la palabra alemana "gischt". Por otro lado, el término francés "levure", está conectado evidentemente con las palabras latinas "levar", "levator" y "levatus", cuya significación se indicó anteriormente. Asimismo, "hefe" en alemán y "heffe" en holandés, se refieren a los mismos fenómenos. Algunos autores indican, además, que la palabra alemana "hefe" fue después usada también para indicar el sedimento, o sea, "las heces de la cerveza" de que hablaban los primeros investigadores, cuando llegó a saberse con claridad que este sedimento comprende el agente de la fermentación.

En cuanto a la segunda pregunta que anteriormente nos hemos planteado, ¿qué son las levaduras?, tenemos que manifestar que, aun en la actualidad, es difícil dar una definición exacta de estos microorganismos.

Desde que se descubrieron las levaduras y con los primeros estudios de las mismas, numerosos autores trataron de dar un concepto de ellas, pero conforme avanzaron las investigaciones, esos conceptos fueron igualmente variando. Así, Rees, de Bary y Engels, en la primera mitad del siglo pasado, basándose únicamente en la forma, en las dimensiones y en la reproducción que de estos organismos se conocía, llamaron levaduras o "*Saccharomyces*", a los hongos unicelulares y microscópicos que se reproducen por yemas o brotes. Pasteur, a los anteriores caracteres, agregó otro para él muy importante, o sea, que dichos hongos tenían la propiedad de efectuar fermentación alcohólica en líquidos azucarados. Posteriormente Hansen limitó el nombre de "levaduras" para los hongos con brotes o yemas que daban lugar, en determinadas condiciones, a la formación de ascosporas.

A principios del presente siglo, y después de numerosos estudios acerca de estos microorganismos, el ilustre micólogo Guilliermond, en la introducción de su bien conocido libro "Les Levures", traducido después por Tanner al inglés, bajo el título "The Yeasts", indica que: "Bajo el nombre de levaduras han sido generalmente agrupados todos los microorganismos que, cuando se colocan en soluciones azucaradas, las descomponen en alcohol y bióxido de carbono, o sea, efectúan fermentación alcohólica". Después de hacer algunas consideraciones sobre este concepto que según expresa, se tomó de las propiedades químicas de dichos microorganismos y cuando aun no se ponía atención a su verdadera naturaleza, indica, más adelante, que: En la actualidad el nombre de levaduras ha tomado un significado restringido entre los botánicos. En el sentido botánico —agrega— las levaduras son hongos unicelulares de interés bioquímico, de forma esférica u oval, y que se multiplican por brote."

Posteriormente, y en una nueva obra que publicó acerca de estos organismos, el mismo autor dice: "Las levaduras son hongos unicelulares pertenecientes al grupo de los *Ascomycetes*. Se presentan bajo la forma de células arredondadas, ovals o cilíndricas, que se multiplican por brote."

En 1941, Henrici, micólogo norteamericano, en una de sus numerosas publicaciones asienta: "Muchos bacteriólogos con poca experiencia en el estudio de las levaduras, piensan que conocen con mucha precisión qué es una levadura, y la definen como un hongo unicelular que se multiplica por brote. Actualmente tal definición se aplicará únicamente a una pequeña proporción de los organismos, actualmente clasificados como levaduras, y solamente a éstos cuando son mantenidos bajo condiciones constantes y no estudiados muy cuidadosamente." Tuvo razón este autor al escribir las líneas anteriores, pues numerosas levaduras no se multiplican por brote y otras más, colocadas en ciertas condiciones, pueden producir rudimentos de micelios y aún micelios verdaderos.

En 1947, Skinner, Emmons y Tsuchiya, bacteriólogos norteamericanos, dan la siguiente definición:

"Las levaduras son verdaderos hongos cuya forma usual y dominante es unicelular." Pero agregan que: "Esta definición, sin embargo, no excluye a ciertos de los hongos primitivos los cuales son unicelulares, pero no son levaduras, y no incluye ciertas formas a veces consideradas como levaduras en las que se produce comúnmente un micelio."

En el último libro sobre levaduras, que se publicó apenas en agosto del año pasado, los autores del mismo, Lodder y Kreger-Van Rig, investigadores holandeses, nos indican que: "es muy penoso tener que manifestar que no es posible dar una definición satisfactoria del término "levaduras", el cual abarca completamente todos los organismos que son en la actualidad más ó menos generalmente aceptados, como pertenecientes al dominio de las levaduras".

Por todo lo anterior, y muchas otras consideraciones que hemos omitido, debemos reconocer que el término "levaduras" denota un grupo de microorganismos que no está bien definido, ni es homogéneo. Y aun debe admitirse que los límites de su dominio son vagos y sujetos a decisiones arbitrarias. Filogenéticamente constituyen un grupo muy heterogéneo, lo que se puede observar claramente al estudiar su clasificación, por medio de la cual nos damos cuenta que se incluyen en diversos grupos de los hongos. Así, las levaduras que forman ascosporas, se colocan en la clase de los *Ascomycetes*, las que generan esporas exógenas semejantes a las basidiosporas o a los conidios, se sitúan ya entre los *Basidiomycetes* o en los *Fungi Imperfecti*, y las que no producen ningún tipo de esporas, en

los *Fungi Imperfecti*.

PRIMEROS ESTUDIOS ACERCA DE LAS LEVADURAS

El estudio de las levaduras está íntimamente asociado con el de las fermentaciones. Así, Leeuwenhoek, observando al microscopio el sedimento que provoca la fermentación del mosto de cerveza, fue el primero que en 1680 mencionó las levaduras, a las que denominó *Fermento cerevisiae*, expresando que dicho sedimento estaba formado de un gran número de cuerpos de forma globular. Fabroni, en 1789, comparó a las levaduras con los albuminoides. En 1825, Desmazières indica la naturaleza vegetal de estos organismos, dándoles el nombre de *Mycoderma cerevisiae*. Más tarde, otros investigadores como Mitscherlich (1834), Latour (1836), Schwann y Kützing (1837), confirmaron las observaciones de Desmazières, demostrando que las levaduras de la cerveza y las del vino, estaban formadas por células vegetales organizadas, en las cuales se podía distinguir una membrana externa y un contenido viscoso y granuloso. Schwann y Latour, en 1839, hacen constar que dichas células podían reproducirse por brotes y también por la formación en el interior de sus células de cuerpos pequeños o esporas, los cuales podían quedar libres por la ruptura de la pared de las células madres. Sin embargo, la descripción de estas esporas no fue dada a conocer sino hasta el año 1869, por Seynes y Rees. Schwann, por la misma época, es el primero que hace constar la relación de causa a efecto que existe entre las levaduras y los jugos azucarados, expresando que dichas células eran las que producían a fermentación y que sin ellas este fenómeno no se efectuaría.

Con todos los estudios anteriores, debemos reconocer, sin embargo, que la naturaleza y el papel de las levaduras no quedaron bien definidos hasta la época en que Pasteur inició sus memorables investigaciones sobre las fermentaciones. En esa época, ya se sabía que las levaduras se multiplicaban cuando se introducían en un mosto, pero también se pensaba que se formaban espontáneamente y que en sus células había una fuerza oculta que producía la fermentación. Con Pasteur comenzó el conocimiento preciso acerca de estos organismos, y así, en 1859, estableció con brillantes experiencias, que la fermentación alcohólica es correlativa con la vida de los mismos. Poco tiempo después, demostró la imposibilidad de la generación espontánea e inició los métodos de cultivos puros, gracias a los cuales se pueden estudiar con precisión las levaduras. Desde esta época, dichos organismos fueron objeto de numerosas investigaciones, pero como los métodos de cultivo y sobre todo los de aislamiento no se tomaron muy en cuenta, el avance en su conocimiento fue muy lento. Así, uno de los primeros escollos con que se encontraron los investigadores, fue la dificultad para distinguir las levaduras de otros microorganismos que se desarrollaban en los mismos medios. Se dieron a conocer, por lo tanto, conceptos erróneos como el de que todos los microorganismos se podían reducir a un corto número de especies capaces de mostrar diferentes formas según las condiciones de vida, o sea, vino una exaltación exagerada del polimorfismo. Entre esas ideas están las de Bechamp, quien estableció, en 1871, que las bacterias acéticas se podían transformar en levaduras; las de Trecul, que en 1872 indicó haber obtenido la transformación de las esporas de *Penicillium glaucum* en levaduras, y las de Robin, en 1875, quien aseguró que muchas levaduras eran formas diversas de distintos mohos.

Estas ideas y otras muchas más, similares a estas, estancaron y aun retrasaron, como es fácil suponer, el mejor conocimiento acerca de las levaduras. Por otro lado, es satisfactorio señalar que, por esa misma época, insignes autores como Traube, Mayer, Fitz, Naegeli, Hansen, Hoffmann, Rees, Brefeld, Will, Lindner, Seynes, Buchner, y otros muchos más que no es posible citar, por ser tan numerosos, hicieron trabajos muy valiosos que echaron por tierra los falsos conceptos anteriores y lograron impulsar el estudio de estos microorganismos.

Entre los citados investigadores, fue indudablemente Hansen uno de los más eminentes, pues a través de sus cuidadosas investigaciones por un período de más de 30 años, este ilustre sabio perfeccionó los métodos implantados por Pasteur en el cultivo y aislamiento de las levaduras, mediante los cuales logró estudios morfológicos y fisiológicos precisos acerca de las mismas. Llegó a obtener cultivos puros a partir de una sola célula y separar unas especies de otras; encontró las diferencias entre éstas y pudo identificar gran número de ellas cuyos nombres en la actualidad aun se conservan. Por último culminó sus estudios elaborando a principios del presente siglo, una clasificación de las levaduras que fue universalmente aceptada. En esta clasificación Hansen las agrupó en una sola familia, *Saccharomycetes*, a la que asignó como caracteres fundamentales la reproducción por gemación y la formación de endosporas, e incluyó en la misma los géneros *Saccharomyces*, *Zygosaccharomyces*, *Saccharomycodes*, *Saccharomycopsis*, *Pichia* y *Willia*, tres de ellos establecidos por él mismo, y los otros por Meyen, Barker y Schoenning.

Fue asimismo Hansen quien dilucidó el problema que durante algunos años preocupó a Pasteur y a otros investigadores de su época, consistente en la presencia de levaduras sobre la superficie de las uvas y otras frutas cuando llegan a su madurez, utilizando métodos de estudio y técnicas muy precisos, demostró que esas levaduras

pasan el invierno en el suelo, sobre todo en aquél que se encuentra debajo de los árboles con frutos jugosos y azucarados. Llegan al suelo cuando caen los frutos maduros, son luego arrastradas a cierta profundidad por las lluvias, y allí pueden resistir durante el invierno, primavera y verano; al llegar el otoño, el viento y los insectos las llevan a la superficie de nuevos frutos en madurez. Debido a esto, se pueden encontrar levaduras entre los microorganismos del aire, aunque su número es reducido, como lo demostró Miquel, quien indicó que son transportadas especialmente por los insectos. Otros investigadores entre ellos principalmente Berlese, admitieron también, que muchas levaduras llegan al suelo después de haber pasado por el tubo digestivo de las aves, insectos y otros animales, sin perder su vitalidad. Thurgan, llevando a cabo experiencias muy precisas, hizo constar la resistencia vital de muchas levaduras, enterrándolas en el suelo y volviendo a cultivarlas después de un tiempo mas o menos largo.

Hansen prosiguió sus investigaciones en mayor escala, aislando levaduras de los suelos de Dinamarca, Alemania, Italia, los Alpes, etc., países y lugares sometidos a climas muy diferentes, e hizo constar, en todos los casos, la presencia de ellas en el suelo.

Para acabar de cimentar el enorme edificio en que hoy se albergan los estudios de la fermentación alcohólica y de las levaduras, sólo faltaba colocar la última piedra, o sea, encontrar la sustancia activa que produce la levadura, la cual desencadena el proceso de la fermentación alcohólica.

Fue Berthelot, en 1858, el primero que indicó que esta fermentación era llevada a cabo por enzimas secretadas por la levadura. En 1860, Bernard y otros investigadores, refutaron este punto de vista, pero Pasteur y Cochin, pensando en la probabilidad del mismo, trataron de aislar esta enzima de la levadura, aunque sus esfuerzos no dieron resultado.

En vista de este fracaso, Pasteur, sin descartar la posibilidad de una acción de la enzima, llegó a pensar cada vez más, que la fermentación era un acto vital de las células de las levaduras, y que la presencia de éstas en los medios azucarados era indispensable para que aquélla se efectuara.

Buchner, en 1897, aclaró este problema, lanzando un chispazo que iluminó a la Ciencia y la hizo avanzar un paso considerable. En efecto, este sabio logró, por métodos muy ingeniosos, extraer y aislar la zimasa de las células de levaduras, y con ella, fermentar un líquido azucarado sin la presencia de estos microorganismos. Este descubrimiento echó por tierra la concepción vitalista de Pasteur, acerca de la fermentación alcohólica. Posteriores investigaciones confirmaron los estudios de Buchner, logrando aislar la zimasa por nuevos y mejores procedimientos, dando a conocer su estructura química, modo de acción, condiciones en que ésta se realiza y muchos otros conocimientos acerca de la misma.

METODOS DE AISLAMIENTO DE LAS LEVADURAS

El pivote de donde deben partir todos los estudios sobre levaduras, es indudablemente su aislamiento en cepas puras a partir de una sola célula. En la naturaleza las levaduras se encuentran mezcladas con otros microorganismos muy diversos, especialmente bacterias y esporas de mohos. De manera que al efectuar los primeros cultivos de ellas, en éstos aparecen, seguramente, las bacterias y los mohos.

Si por procedimientos bien sencillos, de estos cultivos se pueden eliminar estos últimos organismos, es más difícil separar las distintas especies de levaduras, las que no se pueden distinguir unas de otras por un simple examen de las colonias, ni por una observación microscópica, ya que sus células son muy semejantes. Por lo mismo, no se podrá estar completamente seguro de trabajar con una sola especie de levaduras, si el cultivo no se ha obtenido a partir de una sola célula.

Los primeros intentos para cultivar las levaduras en estado puro, pero que no tuvieron resultados, ni dejaron alguna huella, se deben a Mitscherlich en 1834, a Kutzing en 1851 y a Schulze en 1860. Sin embargo, no se puede hablar de intentos verdaderamente serios a este respecto, sino a partir del momento en que los investigadores se comenzaron a ocupar de la fisiología de las mismas. Así fue como Pasteur, preocupado por el estudio de las fermentaciones, propone, en 1876, el primer método para aislar levaduras llamado "seleccionamiento mecánico", basado en cultivos sucesivos hasta obtener una selección por concurrencia vital y por el predominio del más fuerte. Cohn, entusiasmado con este método, lo utilizó al año siguiente para obtener cultivos puros de bacterias, logrando en algunos casos resultados positivos, pero en muchos otros, éstos fueron negativos o dudosos.

Hansen, controlando el método de Pasteur, llegó a la conclusión de que si a veces se llega a eliminar las bacterias, a menudo las levaduras silvestres que se encuentran siempre en compañía con buenas levaduras, se

desarrollan con tanto vigor, que impiden el crecimiento de estas, que son las que se desean aislar y purificar. En verdad, si se desea emplear este método para producir levaduras seleccionadas útiles a la industria, se podrá obtener sin sorpresa, especies muy diferentes a las que se desean aislar.

Hacia el año 1865, Jacobsen funda los famosos laboratorios de Carlsberg, que después se ocuparon especialmente del estudio de las fermentaciones y en la producción de buenas levaduras para las industrias. Fue aquí donde Hansen empleó el método de las "diluciones sucesivas" o mejor llamado "seleccionamiento mecánico". El procedimiento utilizado por este investigador había sido ya ideado por Lister en 1876, quien lo siguió para la obtención de cultivos puros de bacterias lácticas. Hansen, sin embargo, modificó levemente el método de Lister, agitando intensamente los matraces que contienen el medio líquido en donde están unas cuantas células de levaduras, y así éstas quedan mejor aisladas unas de otras y al reproducirse dan cultivos que teóricamente pueden ser puros.

Koch, en 1883, estudiando las bacterias, ideó el método de "cultivos en placa", utilizando por primera vez un medio sólido que fue la gelatina nutritiva. Este procedimiento, en pocas palabras, consiste en repartir unas cuantas células en agua estéril, tomar de aquí una gota y mezclarla con gelatina licuada, la cual se coloca en laminillas de vidrio estériles; al solidificarse la gelatina, fija a las células probablemente separadas unas de otras, y al desarrollarse los cultivos, algunos de ellos se habrán obtenido a partir de una sola célula.

En 1886, Hansen adoptó el método de Koch para las levaduras, pero aportando una ligera modificación, que consistió en colocar las laminillas de gelatina, ya con las levaduras separadas, en cámaras húmedas estériles; esto permite observar en el microscopio la reproducción de las células y certificar cuáles cultivos se desarrollan a partir de una sola de ellas.

Aunque este método de aislamiento es bastante preciso y más efectivo que los anteriores, no es absolutamente seguro, como lo demostró Holm en 1891, después de numerosas experiencias. Jorgensen, comentando en 1899 los métodos de aislamiento propuestos y sobre todo las demostraciones de Holm, expresa: "Después de las experiencias de Holm hechas en 1891, en veinte series de ensayos efectuados según el procedimiento de Hansen, con mezclas distintas, sucedió que, en un solo caso, numerosas colonias habían sido formadas por numerosas células, y en todas las otras series se encontraron errores. Por lo tanto —agrega después— queda demostrado que el procedimiento sobre placas es igualmente defectuoso para la levadura". "Repitiendo aún muchas veces los cultivos sobre placas, no se sabe jamás si el resultado se ha realmente alcanzado o no".

Para dar mayor precisión y una completa seguridad al método de Hansen, Lindner propone en 1893, los cultivos en gotas suspendidas, para lo cual, después de repartir unas cuantas células en gelatina, tome ésta y la coloca en gotitas muy pequeñas sobre una laminilla, la cual se pone en cámara húmeda. Observando las gotitas al microscopio, se escogerán aquellas que tengan una sola levadura, las que se pueden pasar aisladamente a un medio líquido o dejar que se desarrollen y entonces tomar la colonia y pasarla a un nuevo medio en donde adquiere su completo desarrollo.

Anotando un poco de nuestra experiencia personal, nos es grato indicar, que en los laboratorios del Instituto de Biología, desde el año 1932, nos hemos dedicado al aislamiento de cepas puras de levaduras, y al estudio de las mismas, encaminando principalmente a su determinación sistemática. Desde esa época hemos practicado, en numerosas ocasiones, todos los métodos de aislamiento enunciados, y el único que nos ha dado resultados enteramente satisfactorios, ha sido el de Lindner. Sin embargo, como la manipulación de la gelatina presta ciertas dificultades hemos substituido este medio por uno líquido, principalmente mosto de cerveza, o cualquier otro que sea muy nutritivo. El medio líquido se presta a una mejor separación de las células y cuando éstas han desarrollado un cultivo puro, la toma de las gotitas líquidas de las laminillas para pasarlas a otro medio, constituye una operación más sencilla, que cuando las gotitas son de gelatina.

Después de escuchar las líneas anteriores, a muchas de las personas aquí presentes seguramente les habrá extrañado el hecho muy notorio, que se pudiera tomar como un grave olvido, consistente en no haber hecho mención del papel que en estos estudios han desempeñado los investigadores mexicanos. Ello se debe a que anteriormente en el Congreso Científico Mexicano, organizado por la Universidad Nacional en septiembre de 1951, ya presentamos un trabajo titulado "Estudios realizados en México sobre levaduras", en el cual se discutió ampliamente la modesta, pero muy seria labor, que han desarrollado en estos estudios, muchos de nuestros hombres de ciencia.

En aquella ocasión citamos al Dr. Río de la Loza, quien fue el primero, en 1864, en observar ante el microscopio las levaduras del pulque; al Dr. Barragán, que hizo la primera descripción de las mismas en 1870,

asignándoles el nombre de *Cryptococcus* del pulque, y sobre todo recalcamos las magníficas investigaciones de Gaviño y de Carbajal, considerados como los precursores de la microbiología en México. El primero de ellos, en 1896, logrando cultivos de levaduras y bacterias del pulque por primera vez en México, con la descripción de sus caracteres, y Carbajal, en 1901, con una mejor preparación, gracias a los estudios que realizó en Europa a lado de famosos investigadores, efectuando estudios más brillantes y precisos de los mismos organismos.

Asimismo, hicimos mención de muchos otros autores, que aunque en forma menos destacada que los anteriores, también trabajaron con levaduras, o cuando menos hicieron mención de ellas en sus publicaciones, como Guerrero y Visiera (1874), Lobato (1884), Segura (1891), Altamirano (1896), Cordero (1916), Morton Gómez (1925), ayudante de Lindner cuando este sabio estuvo en México estudiando la fermentación del pulque y sus microorganismos, y muchos otros más citados en nuestro trabajo.

De la misma manera, en dicha ocasión encomiamos y discutimos las brillantes investigaciones que desde hace varios años se están realizando en el Instituto Politécnico Nacional, en donde el Dr. Sánchez-Marroquín y sus discípulos, con un esfuerzo admirable, han efectuado estudios bioquímicos sobre las levaduras, de gran aplicación en las industrias. Hicimos notar también, el papel correspondiente al Instituto de Biología, de la Universidad Nacional, en cuyos laboratorios, con los modestos medios a nuestro alcance, hemos logrado el aislamiento de numerosas cepas puras de levaduras y el estudio y determinación taxonómica de muchas de ellas entre las que han resultado varias especies nuevas.

Sin embargo, en aquella ocasión no tuvimos la oportunidad de citar a otras personas, que en esa época estaban iniciando sus investigaciones acerca de estos microorganismos. Entre ellas, estimamos de justicia, mencionar ahora, a algunos de nuestros discípulos más destacados, como la Srita. Martha Mascott, desgraciadamente fallecida en la primavera de su vida, que publicó un estudio acerca de las levaduras de los tibicos del arroz, identificando dos especies citadas por primera vez en México; a la Srita. Deolinda Nava, que por estos días termina un trabajo referente a las levaduras del tepache, el cual presentará como tesis para optar al título de Biólogo en la Facultad de Ciencias, y muy especialmente a la Srita. bióloga Ma. del Carmen Ortega, que está realizando en el Instituto de Biología, probablemente el estudio más amplio e interesante a este respecto, y que le servirá como tesis para obtener el Doctorado en Biología. Desde hace más de un año, y bajo nuestra dirección, ha emprendido la tarea de estudiar las levaduras que viven en los frutos de México; hasta la fecha ha logrado aislar más de 60 cepas puras de diversos lugares de la República, y terminar el estudio de varias de ellas. Seguramente los resultados que se obtengan de este trabajo, serán muy provechosos para la ciencia y para nuestro país.

Para terminar, no nos queda sino hacer constar, una vez más, que en manos de nuestros jóvenes están indudablemente el porvenir de las futuras investigaciones en México y el engrandecimiento de nuestra Patria.

BIBLIOGRAFÍA

- GULLIERMOND, A., 1920. The Yeasts, pp. 1-424. John Wiley and Sons. Inc., New York.
- 1928. Cléf. dichotomique pour la détermination des levures, pp. 1-124. Librairie Le François. Paris.
- HENRICI, A. T., 1941. The Yeasts. Bacteriological Reviews. Vol. 5 (2) 97-179.
- KAYSER, E., 1905. Les Levures, pp. 1-212. Masson et Cie. Paris.
- LÉVY, L., 1900. Microbes et Distillerie, pp. 1-323. Georges Carré et C. Naud, Editeurs. Paris.
- LODDER, J. y KREGER-VAN RIJ, N. J. W., 1952. The Yeasts. A Taxonomic Study, pp. 1-713. North-Holland Publishing Company, Amsterdam.
- MRAK, E. M. y PHAFF, H. J., 1948. Yeasts. Reprinted from Annual Review of Microbiology, pp. 1-46. Berkeley, California.
- NITESCU, M. A., 1915. Contribution a l'étude de levures roumaines. Thèse pour le Doctorat. Faculté des Sciences de Paris, pp. 1-56. Jouve et Cie., Editeurs. Paris.
- REDAELLI, P. y CIFERRI, R., 1929. Studies on the *Torulopsidaceae*. Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten. II. Abteilung. Bd. 78.

- RUIZ ORONoz, M., 1936. Contribución al conocimiento de las levaduras de México. Tesis para optar al título de Maestro en Ciencias Biológicas. pp. 1-95. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional. México, D. F.
- 1942. Métodos de estudio y clasificación de las levaduras. Principales levaduras del aguamiel y del pulque. Tesis para optar al grado de Doctor en Ciencias Biológicas. pp. 1-123. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional. México. D. F.
- 1952. Estudios realizados en México sobre levaduras. Anales del Instituto de Biología. XXIII:13-37. México, D. F.
- SKINNER, CH. E., EMMONS, CH. W. y TSUCHIYA, H. M., 1947. Henrici's Molds. Yeasts, and Actinomycetes, pp. 1-409. John Wiley and Sons, Inc. New. York.