

PSEUDOMONAS SALINARIA, AGENTE PRODUCTOR DEL "ROJO" EN LOS PRODUCTOS PESQUEROS, SALADOS

VICTOR H. BERTULLO

INTRODUCCION

La producción de pescado salado, seco y/o en salmuera, se encuentra afectada en gran parte, por una alteración bacteriana que entre los pescadores es conocida con el nombre de "rojo", "ruye" o "ruyet", siendo estas dos últimas acepciones deformación de la denominación francesa de "rouge".

Seoane (26) al describirla en el tasajo, la denomina "viso rosado". El porcentaje de contaminación en los productos pesqueros salados, es mayor del 50 % y es debido, en general, al uso de sales infectadas y a la prevalencia del organismo productor en las plantas de salazón.

El hecho de que se trabaje con sales importadas, todas de origen solar y que no se tomen medidas higiénico-sanitarias, en lo que respecta a la eliminación de la contaminación, mantiene el problema en plena actualidad, con la tendencia a aumentar su difusión, por las razones apuntadas precedentemente.

De acuerdo a las experiencias realizadas, encontramos que el agente causal del "rojo" es una bacteria cromogena, halofila, que hemos clasificado como **Pseudomonas salinaria** siguiendo el criterio de Harrison y Kennedy (15).

Revista de Literatura

Durante los últimos 70 años, muchas han sido las investigaciones lle-

(*) Tecnólogo Pesquero. Jefe del Departamento de Investigaciones Pesqueras y Fauna Indígena de la Facultad de Veterinaria de Montevideo. Jefe del Control Sanitario del Servicio Oceanográfico y de Pesca (S.O.Y.P.).

vadas a cabo en el mundo, con la finalidad de identificar el agente causal de esta alteración. La primera investigación científica sobre el "rojo" del bacalao, es atribuída a Farlow (13).

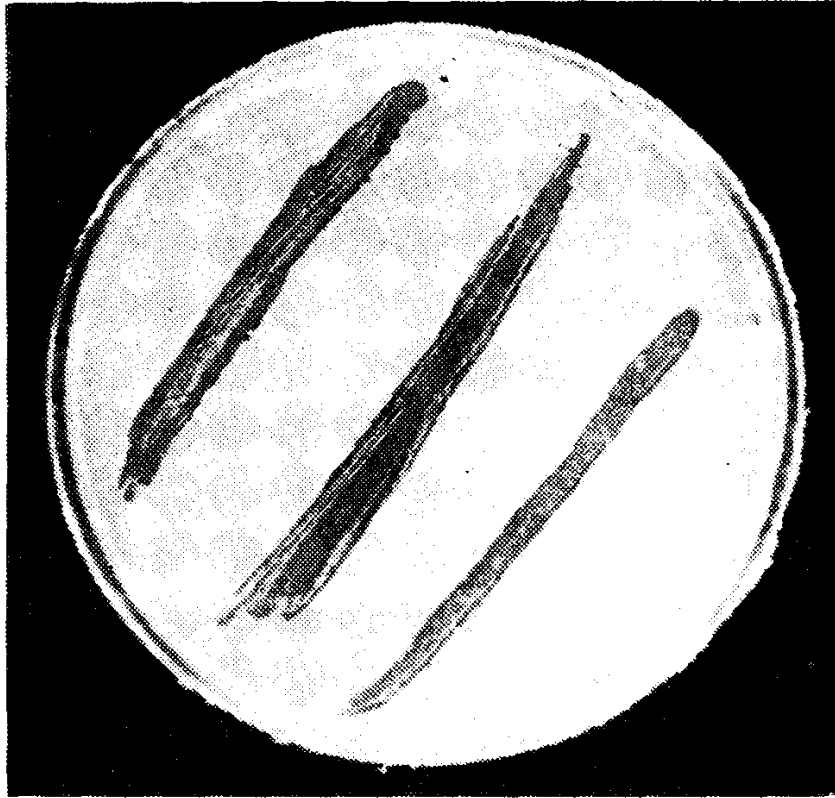


Foto Nº 1. — Cultivo de velo, en medio de Dussault y Lechance

Examinando raspajes de bacalao alterado y de las plantas de salazón de Gloucester Mass., y la sal de Cádiz utilizada, encontró un hongo o alga que consideró como productora del "rojo" identificándola como **Clathrocystis roseo-persicina**. Halló junto a este organismo, otro que clasificó como **Sarcina morrhuae**.

Poulsen (23) aisló del lodo de la Bahía de Copenhague dos bacterias que clasificó como **Micrococcus littoralis** y **Sarcina littoralis**, catalogando ésta como similar a la **Sarcina morrhuae** de Farlow y atribuyéndoles la producción del "rojo" en el bacalao.

Megnin, según Bertherand (2) considera que **Coniothecium bertherandi**, ocasiona la alteración.

Gayon y Carles (1886) citados por Stuart, Frey y James (28) describen un **Bacillus** y un **Micrococcus**, que cuando se mezclan, producen el "rojo".

Edington (12) da como agente causal al **Bacillus rubeaceus**.

ANALES DE LA FACULTAD DE VETERINARIA

Le Dantec (9) (10) comunica que las algas clasificadas **Clathrocystis**, **Protomycetes**, etc., no eran responsables de la alteración y considera que la producían dos organismos: un **Coccus** y un **Bacillus**.

Hoye (1901 - 1904 - 1906 - 1908) según comunicación de Stuart, Frey y James (28) en cuidadoso estudio sobre el "rojo" del pescado salado seco, encuentra que hongos, levaduras y bacterias, no sólo crecen en altas concentraciones salinas, sino que poseen propiedades halófilas, que proliferan más abundantemente a medida que aquellas son mayores. Asocia la **Torula epizoa** y la bacteria roja con el "rojo". Encuentra el organismo en sales de Cádiz, Trapani, Puerto Said, Ibiza y de Túnez, así como también en el pescado salado, seco. El coco rojo, aparecía a menudo como un **Diplococcus**.

Beckwith (1) aísla del bacalao salado, seco, un diplococo que denomina **Diplococcus gadidarum**.

Bitting (3) encuentra cocos ocurriendo como **Tetradas** o **Diplococcus**; un Bacilo esporulado y un **Oidium**, como organismos comúnmente asociados con las rodobacterias del pescado salado.

Kellerman (18) comunica sobre dos cocos aislados del bacalao "rojo", considerando a uno, idéntico a **Micrococcus littoralis** (Poulsen), **Sarcina littoralis** (Poulsen) **Clathrocystis roseo-persicina** (Farlow), **Diplococcus gadidarum** (Beckwith). Para el otro germen, sugiere el nombre de **Micrococcus littoralis gadidarum**.

Martel y Germain (20) proponen el nombre de **Micrococcus rubrovicosus**, denominación que engloba todos los atributos del organismo.

Bromne (6) imputa el enrojecimiento del pescado salado, a dos organismos, una espiroqueta y una bacteria, originales de la sal usada en la curación. Sostiene que todas las sales solares del mundo están contaminadas con **Spirocheta halophila** y **Bacterium halophila**, mientras que las sales de minas parecen estar libres de ellas.

Harrison y Kennedy (15) fueron los primeros en pensar en que el "rojo" no era causado por dos organismos, demostrando más tarde que era uno de naturaleza ampliamente pleomorfológica, cuya habilidad de tener cambios regenerativos en su morfología era atribuible a un estado simplástico del crecimiento. Comprueban que las sales solares o marinas tales como las de Ibiza, Trápani, Torrevieja y de las Islas Turcas, contienen organismos "rojos". Aunque plantean ciertas objeciones para colocar el organismo en el género **Pseudomonas**, sugieren que por el momento se clasifique como **Pseudomonas salinaria**.

Cloake (8) comunica que el "rojo" del bacalao es producido por un coco y un organismo "X", los que podrían crecer sólo en altas concentraciones salinas, siendo el último excesivamente polimórfico.

REPUBLICA ORIENTAL DEL URUGUAY

Boury (4) describe dos gérmenes. Un coco que toma la forma de sarcina: **Sarcina morrhuae** y un bacilo: **Bacillus halobius ruber**.

Petrova (21) estudiando las características de las bacterias que infectaban diversos depósitos salinos, rusos llega a la conclusión de que la mayoría de los autores han descrito todos las mismas especies bacterianas, que han observado en diferentes etapas de su desarrollo. Esta opinión está basada en la marcada tendencia de las especies, notadas también por diversos autores, a modificarse en respuesta a las influencias internas o externas. Creyéndolo idéntico al **M. roseus** (Bumm), propone el nombre de **M. roseus halophilus** o **salinarius** (22).

Puncochar y Arana (24) estudiando la producción del "rojo" en los productos pesqueros salados de Venezuela, encuentran que el agente causal es **Pseudomonas salinaria**.

MATERIAL:

Para la aislación de la bacteria que se describe, se utilizaron los siguientes materiales infectados:

- a) salazón seca de Pescadilla (**Cynoscion Striatus**), Brótola (**Urophisys brasiliensis**) y Corvina negra (**Pogonias crhomis**).
- b) Anchoíta (**Lycengraulis olidus**) salada en salmuera, investigándose también ésta.
- c) Diversas sales solares, utilizadas por los saladores en la preparación de sus productos.

En el caso de a) se efectuaron raspajes de las zonas más intensamente coloreadas, las que fueron disueltas al 1 % en suero fisiológico estéril. En b) se procedió con el producto de manera similar a a); con la salmuera se sembró directamente luego de homogeneizarla.

En c) se prepararon con las sales sospechosas, soluciones al 1; 5; y 10 % en suero fisiológica estéril, según el grado de contaminación que se estimó de acuerdo a la ocurrencia del "rojo".

- d) Para la preparación de caldo, se utilizaron filetes de Corvina (**Micropogon opercularis**) y de Pescadilla (**Cynoscion striatus**).
- e) Durante la experiencia, se utilizó "sal rota" comúnmente usada para la salazón.
- f) Los medios de cultivo y los compuestos orgánicos empleados durante la investigación pertenecen a los laboratorios Difco, de Estados Unidos de América. Las sales y demás compuestos químicos, son de Merk.

AISLACION:

El caldo de Corvina y pescadilla, se obtuvo hirviendo 1 Kg. de filetes en dos litros de agua, durante treinta minutos, filtrando en caliente, por papel de filtro N° 10. Se preparó entonces el siguiente medio: Agar Nutritivo, 15 gr. sal 50 gr. caldo de pescado 500 ml., entubándolo y esterilizando a 15 lbs. durante quince minutos, dejando luego solidificado en pico de flauta. Para la siembra en cajas de Petri, se fundió el medio antedicho.

Los materiales a investigar se colocaron convenientemente diluidos en cajas de Petri, agregándose luego el medio e incubando a 37oC.42oC. y a temperatura de laboratorio (23o.-25oC.).

La mayor parte de las colonias observadas eran de color blanco o blanco cremoso, no encontrándose ninguna de color rosado. En repicages sucesivos, se obtuvieron cultivos con pigmentaciones francas, que iban del rosado fuerte al rojo vivo, lo que tomo según los casos, de 30 a 45 días. La lentitud de crecimiento en este medio, nos llevó a seleccionar otro más rápido y tomando en consideración las experiencias de Harrison y Kennedy (15), Boury (4), Hess (16), (17) y Dussault y Lachance (11), nos permitió adoptar el de estos últimos investigadores, que en un lapso de 3-5 días, permite obtener abundantes y bien coloreadas colonias de **Pseudomonas salinaria**.

El organismo se presenta como bacilo y/o coco, es **Gram negativo**, no forma esporos, encontrándose en los primeros repicages del cultivo original, muchos gérmenes que presentan una o dos manchas oscuras en los extremos, que parecen esporos. Según Harrison y Kennedy (15), dichas manchas serían una transición de la forma bacteriácea a la cocácea.

Concentración Óptima de Sal, para el Crecimiento.

Con la finalidad de conocer a que concentración salina crece mejor el organismo, se preparó caldo nutritivo con NaCl en porcentajes variables de 0 al 25 %.

El "inoculum" se efectuó con cultivos de 5 días, tomados del medio de Dussault y Lachance (11), cultivando a 37o.C. El crecimiento fué bueno a las 48 hrs. en las concentraciones del 5, 10 y 15 %, formándose película en la superficie del medio en las dos últimas, al cabo de 5 días. El desarrollo en caldo con el 20 y 25 % de NaCl, es más lento y menos productivo, però se produce siempre, confirmando lo comunicado por Harrison y Kennedy (15) y rectificando lo afirmado por Bitting (3), Beckwith (1), Puncochar y Arana (24) y Stuart, Frey y James (28) que afirmaban que no crece en concentraciones salinas del 15, 20, 24 y 25 % respectivamente.

REPUBLICA ORIENTAL DEL URUGUAY

Cultivada en medio líquido, *Pseudomonas salinaria*, varía de forma de acuerdo a la cantidad de sal contenida en el mismo. A concentraciones del 5 al 15 % se encuentra una mezcla de bacilos y cocos; al 20 y 25 %, sobre todo a esta última, solo se hallan cocos, ratificando lo comunicado por Harrison y Kennedy (15).

Sin embargo cuando se utiliza un medio sólido, como es el de Dussault y Lachance (11), que lleva un 20 % de NaCl, el crecimiento presenta ambas formas bacterianas.

Stuart Frey y James (28) sostienen que la forma cocácea que aparece en concentraciones del 25 % de sal, es la única que se tiñe, sacando la conclusión de que los cultivos están incuestionablemente mezclados, pero cuando estos se transfieren a un medio de más baja concentración salina, producen no sólo cocos sino que también organismos que parecen bacilos, bacterias como hilo, etc. Este criterio es confirmado por Lloyd (19), Robertson (25), Stather (27).

Coloraciones vitales efectuadas con May Grünwald-Giemsa, solo tiñen la forma cocácea, en cultivos con el 25 % de NaCl, lo que nos induce a discrepar con lo expresado por los citados autores, en este aspecto.

El cultivo prolongado del organismo en caldo nutritivo con NaCl al 25 por ciento permite luego de sucesivos pasajes, al cabo de 3 - 4 meses, la formación de un velo rosado, abundante, filamentososo que comunica su color al medio todo. Su repicaje en el medio de Dussault y Lachance (11) (Foto N °1) da el cultivo característico. El frotis del velo permite observar algunas formas bacterianas, con la predominancia de la cocácea.

Temperatura óptima

Los cultivos efectuados a temperatura ambiente (23° - 25° C.); 45° y 37° C. dieron siempre mejor crecimiento y cromogénesis a esta última, por lo que se estima que *Pseudomonas salinaria* es favorecida por ella.

Aerobiosis

El organismo es estrictamente aerobio, tal cual lo demuestran los cultivos en el medio de Butcher, que fueron negativos. Los cultivos crecen en superficie formando una película en los medios en pico y flauta y un anillo en agar sólido.

CARACTERISTICAS CULTURALES

Gelatina: El crecimiento en gelatina con el 10 % de NaCl es abundante a las 24 hs., siendo lenta la transformación de la misma, que no solidifica luego de quince días.

ANALES DE LA FACULTAD DE VETERINARIA

Cromogénesis: Los cultivos varían en coloración desde el rosado pálido al rojo cereza. En los medios que contienen extracto de carne y/o peptona, la coloración es más pronunciada, ratificando lo comunicado por Puncochar y Arana, (24) de que los grupos proteicos proporcionan mejores condiciones para la formación del pigmento.

Los cultivos desarrollados a 37° C. dan mejor coloración que aquellos a 42° C. y la concentración de NaCl al 10 % es la más favorable.

Con la finalidad de conocer si las impurezas de la sal, podrían influenciar en la cromogénesis, se prepararon medios de cultivo con Cloruro de sodio químicamente puro y a los cuales se les agregaron separadamente y combinadas las siguientes sales: Cloruro de Magnesio (Mg Cl 2) 1 %; Cloruro de Calcio (Ca Cl 2), 1 %; y Sulfato de Calcio (SO₄ Ca) 2 %. Los cultivos efectuados a temperatura de laboratorio, 37° C y 42° C no mostraron mayor diferencia con los testigos. En lo referente a la influencia de las sales de Hierro, se encontró que agregando 10, 20, 30, 40 y 50 p.p.m. de cloruro férrico (FeCl₃.6H₂O) al medio de Dussault y Lachance (11), se obtuvo luego de seis días de cultivo a 37° C. una coloración rojo fuerte en 20 p.p.m. más intensa que el testigo y que en 10 y 30 p.p.m. Con 40 p.p.m. el crecimiento fué más lento y luego de 21 días aparecieron escasas colonias color rosado fuerte. Con 50 p.p.m. no se obtuvo cultivo al cabo de un mes. Fuera de las sales de hierro, parecería que las impurezas que normalmente se encuentran en la sal, no afectan ni la cromogénesis, ni el crecimiento de la bacteria, esto último, ratifica lo comunicado por Freixo (14) en lo relacionado con las sales de Calcio y Magnesio.

Producción de Indol: Se efectuaron cultivos en solución de Bacto-peptona al 1 % con 10 % de NaCl, incubándose a 37° C. durante 48 horas. Se utilizó el método de Erlich-Boème para determinar la presencia de Indol, dando resultado **negativo**.

Acción sobre los Nitratos: Medios de Agar y Caldo nutritivos, adicionados con 0,1 % de nitrato de potasio y 10 % de NaCl, fueron inoculados e incubados a 37° C. durante 48 horas. No se constató ruptura del medio, ni formación de espuma, respectivamente. La prueba de nitrato por el método de Griess-Islova, fué negativa.

Producción de H₂S: El medio de Agar-Acetato de Plomo, adicionado con el 10 % de NaCl, inoculado e incubado a 37° C. durante 48 horas permitió un buen cultivo, pero con relación a la producción de **hidrógeno sulfurado**, fué negativo.

Motilidad: La determinación de motilidad, se utilizó el medio de Tittler y Sandholzer (29) modificado por Darly, al cual se le agregó 10 % de NaCl luego de cultivo a 37°C. durante 48 horas, obtúvose motilidad **positiva**, lo que fué ratificado por el examen microscópico en gota pendiente.

Formación de ácido en medios con carbohidratos

Caldo nutritivo adicionado del 10 % de NaCl, se entubó en cantidades de 10 ml. y se esterilizó a 15 lbs. por quince minutos. Cada tubo disponía de la campana de fermentación de Durham.

Las soluciones de carbohidratos a probar, fueron esterilizadas por pasaje a través de Bujías Chamberlain L3, y se agregaron a los medios en forma aséptica, en proporción del 1 %. Se efectuó la siembra que se colocó a la estufa a 37° C. durante 8 días, al cabo de los cuales se determinó el pH con el potenciómetro Beckman en los testigos y en los sembrados, luego de la observación por si habían formado gas, no constatándose la presencia de éste en ningún tubo. De la variación de los valores del pH, se encontró que con la lactosa, inulina y maltosa existía un aumento sobre el pH original de 0,5 - 0,66 y 0,7 respectivamente. Con la sacarosa, dulcíta, d-sorbita, rafinosa, salicina, y l-arabinosa, una baja del pH de 0,25, 0,3, 0,35, 0,86 y 0,97 respectivamente. En lo relacionado con la d'mannita la baja del pH es del orden de 2,15.

DISCUSION

La concentración del 10 % de NaCl tanto en medio líquido como sólido, parece ser la más favorable para el desarrollo del organismo, principalmente durante los cultivos primarios. Sin embargo, cuando éstos se efectúan en medios de cultivo sólidos, p.e. el de Dussault y Lachance (11), que contiene el 20 % de NaCl es mucho más productivo en medio sólido que en el líquido y segundo, que en el cultivo en aquél, se encuentra a la observación microscópica formas bacterianas y cocáceas mientras que en segundo, sólo cocáceas.

Parecería que existiese un fenómeno de tensión superficial que influenciara sobre la morfología bacteriana y en ese sentido se están efectuando estudios. La formación de velo rosado en caldo nutritivo con el 25 % de NaCl con difusión del pigmento a todo el líquido —que daría razón a la denominación de **Pseudomonas**— es otro aspecto interesante de la característica del organismo. La forma en que actúa sobre la bacteria, una estadía prolongada en la estufa a 37° C. para que ésta emita un pigmento difusible en agua, es otro aspecto que se está considerando. Al examen microscópico aparecen formas cocáceas y bacteriáceas.

La temperatura de incubación a 37° C. es la que más favorece a **Pseudomonas salinaria**, lo que ratifica lo comunicado por Puncochar y Arana (24) y discrepa con el Manual de Bergey (5) que da una temperatura óptima de cultivo de 42° C.

En vista de los caracteres culturales, esta discrepancia de la temperatura, nos hace pensar que estamos frente a una característica regional del organismo y no frente a una nueva bacteria.

ANALES DE LA FACULTAD DE VETERINARIA

Otro hecho es la formación evidente de ácido en medio con d-mannita, también constatado por Puncochar y Arana (24) y ligeras bajas del pH que no alcanza a la unidad, en medios con inulina, l-arabinosa, sorbita, salicina y sacarosa.

CONCLUSIONES

1º — El “enrojecimiento” de los productos pesqueros salados, en el Uruguay, es producido por una rodobacteria, halófila, que hemos identificado como **Pseudomonas salinaria** (Harrison y Kennedy).

2º — Dicha bacteria se ajusta a lo descrito en el Manual de Bergey, difiriendo en la temperatura de incubación, 37º C. en vez de 42º C. y en la concentración salina que más favorece su crecimiento; 10 % en vez de 20 % de NaCl. Estas diferencias no son elementos de juicio suficientes como para intentar una clasificación y los consideramos como características regionales.

3º — Después de prolongado cultivo en caldo nutritivo, con 25 % de NaCl, a 37º C. el organismo forma un velo rosado, produciendo un pigmento que difunde en el medio tiñéndolo de rosado.

CONCLUSIONS

1st. — The “reddening” of fishery salted products, in Uruguay, is produced by a halophilic rodobacteriae, that we have identified as **Pseudomonas salinaria** (Harrison and Kennedy).

2nd. — Such bacteria agree with the description given by Bergey's Manual but differs in the incubation temperature, 37º C. instead 42º C. and in the most favourable salt concentration, 10 % instead 20 % of NaCl. These differences are not enough judgements elements, for trying a classification and we consider them, as regional characteristics.

3rd. — After a prolonged culture of the bacteria in nutrient broth with 25 % NaCl, at 37º C. the organism form a rose-colored veil, producing a pigment that diffuses in the media, staining it in a rose color.

CONCLUSIONS

1º — L'enrougissement des produits de pêches salés, de l'Uruguay, est causés par une rodobactérie, halophile, que nous avons identifiée comme **Pseudomonas salinaria** (Harrison y Kennedy).

2º — Dite bactérie s'ajuste à ce qui est décrit dans le Manuel de Bergey, avec une difference dans le température d'incubation, 37º C. au lieu de 42º C. et dans la concentration saline qui favorise le plus sa

R E P U B L I C A O R I E N T A L D E L U R U G U A Y

croissance; 10 % au lieu de 20 % de NaCl. Ces différences ne sont pas des éléments de jugement suffisant comme pour tenter une classification, et nous le considérons comme caractéristiques régionales.

3° — Après une culture prolongée dans un bouillon, nutritif, avec 25 % de NaCl, à 37° C. l'organisme forme un voile rosé, produisant une pigmentation qui se répand dans le milieu en le colorant de rosé.

SCHLUSSFOLGERUNGEN

1° — Die "Roetung" der gesalzenen Fischprodukte in Uruguay wird durch ein rote Farbe abgebendes und ein salziges Medium bevorzugendes Bakterium hervorgerufen, das als *Pseudomonas salinaria* (Harrison und Kennedy) festgestellt wurde.

2° — Genanntes Bakterium ähnelt dem im Handbuch von Bergey beschriebenen und unterscheidet sich von ihm in der Brutschranktemperatur, 37° C. anstatt 42° C., und in dem Salzgehalt, der sein Wachstumsoptimum bildet, 10 % ige Kochsalzloesung anstelle einer 20 % igen. Diese Unterschiede ergeben m. E. keine genuegende Begrueendung fuer eine besondere Klasseneinteilung. Ich betrachte es als gebietsbedingte Abart.

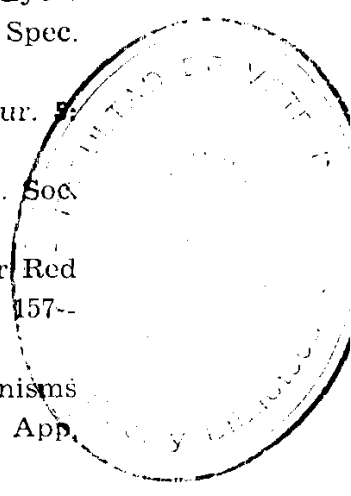
3° — Nach laengerer Zuechtung in Naehrbouillon mit 25 % Kochsalzzusatz und bei 37° C. bildet diesser Organismus eine roetlich gefaerbte Huelle unter Erzeugung von Pigment, das sich in der Fluessigkeit verteilt und sie roetlich faerbt.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

- 1) BECKWITH, T. D. — The Bacteriological Cause of the Reddening of Cod and other Allied Fishes Centbl. Bakt, etc., **60**: 351-354. - 1911.
- 2) BERTHERAND, E. — Le Champignon Toxique de la Morue Séche. J. Med. et Pharm. y'Algerie Ann. 2 (I): 3-8. Illustr. 1884.
- 3) BITTING, A. W. — Preparation of the Cod and Other Salt Fishes for the Market; Including a Bacteriological Study of the Cause of the Reddening. U.S. Dpt. of Agr. Bu. of Chem. Bull. N° 133-63 pags. illustr. 1911.
- 4) BOURY, M. Etude sur le Salage du Poissons. Rev. de Trav. Off. Sci. Tech. Pêches Marit. **7** (11) N° 26: 195-222. 1934.
- 5) BREED, R. S.; MURRAY, E. G. D. y HITCHENS, P. A. — Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 6ª Ed. The Williams and Wilkins Co. Baltimore, Md. U.S.A. 1948.
- 6) BROWNE, W. W. — Halophilic Bacteria. Soc. Expt. Biol. and Med Proc. **19**: 321-322. 1922.

ANALES DE LA FACULTAD DE VETERINARIA

- 7) CLAYTON, W. y GIBBS, W. E. Examination for Halophilic Micro-organisms. *Analyst* **52**: 395-397, 1927.
- 8) CLOAKE, P. C. — Red Discolouration (so-called "Pink" or "Pink Eye") on Dried Salted Fisch. *Rpt. Sci. and Indus. Res. Food Invst. Bd. Spec. Rpt. N° 18* 23 pags. ilustr. 1923.
- 9) DANTEC, A. LE. — Etude de la Morue Rouge. *Ann. Inst. Pasteur.* **5**: 656-667. Ilustr. 1891.
- 10) — Le Microbe du Rouge de Morue. *Compt. Rend. Soc. Biol. Paris.* **61**: 136-138. 1906.
- 11) DUSSAULT, H. B. y LACHANCE, R. A. — Improved Medium for Red Halophilic Bacteria from Salt Fish. *J. Fish. Res. Bd. Can.* **9** (3): 157-163. 1952.
- 12) EDINGTON, A. — An Investigation into the Nature of the Organisms Present in "Red" Cod, and as to the Cause of the Red Colouration. *App. Fish. Bd. Scotland Ann. Rpt.* **6**: 207-214. Ilustr. 1887.
- 13) FARLOW, W. C. — On the Nature of the Peculiar Reddening of Salted Cod Fish During the Summer Season. *U.S. Comm. Fish. and Fisheries Ppt.* 1878 (pt. 6): 969-973. 1880.
- 14) FREIXO, J. A. — Influencia da Natureza do Sal na Salga do Peixe sobre o Ponto de Vista Bacteriológico. *Conservas de Peixe* **6**: 25-26. 1952.
- 15) HARRISON, F. C. y KENNEDY, M. E. — The Red Discolouration of Cured Codfish. *Roy. Sec. Can. Proc. and Trans.* (3) 16 (sec. 5): 101-152 ilustra. 1922.
- 16) HESS, E. — Studies on Salt Fish. VII. Red Halophilic Bacteria in Seawater and Fish Slime and Intestines. *J. Fish. Res. Bd. Can.* **5** (5): 438-439. 1942.
- 17) — Studies on Salt Fish. IX. Effect of Environment upon Growth of Red Halophilic Bacteria. *J. Fish. Res. Bd. Can.* **6** (1): 10-16. 1942.
- 18) KELLERMAN, K. F. — Micrococci Causing Red Deterioration of Salted Codfish. *Centbl. Bakt. etc. (II)* **42**: 398-402. ilustr. 1914.
- 19) LLOYD, D. J. — "Red Heat" in Salted Hides. *J. Internat. Soc. Leather Trades Chem.* **13**: 538-569. Ilustr. 1929.
- 20) MARTEL, H. y GERMAIN, R. — "On the Reddening" of Salt Provision. Isolation of the Specific Agent. Traducido al Inglés por el U.S. Bu. of Fish. *Memo. S-235.* Tomado del *Bull. Ac. Med. Paris. Seance 27. Dic. 1921.* 1921.
- 21) PETROVA, E. K. — Study of the Pleomorphism of the Agent Producing the Reddening of Salt-fish. *Ann. Inst. Pasteur* **2**: 255-263 (Citado por Puncochar y Arana). 1935.
- 22) *Micrococcus Rouge Isolé du Sel et son Importance Industrielle.* *J. de Microbiol. Gral. Agr. et Industrielle (en Russe) Moscu-Leningrado*



R E P U B L I C A O R I E N T A L D E L U R U G U A Y

- 1932: 192-208. Resumen publicado en el Bull. Inst. Pasteur **33**: 314-315. 1935.
- 23) POULSEN, V. A. — Om Nogle Mikroskopiske Planteorganismer et Morfologisk og Kritisk Studie. Videnks Meddel. Dansk. Naturhist Forening Kjøbenhavn. **31-42**: 231 - 254. 1879 - 1880.
- 24) PUNCOCHAR, J. F. y ARANA, F. — Studies on the Control of "Reddening" in Salt-fish Products. Suplemento de "The Venezuelan Salt-Fish Industries". Fish. Leaflet 240. Fish and Wildlife Serv. U.S. Dpt. of the Interior. 68-81 ilustr. 1947.
- 25) ROBERTSON, M. E. — A Note on the Cause of Certain Red Colourations on Salted Hides and a Comparison of the Growth and Survival of Halophilic or Salt-loving Organisms and Some Ordinary Organisms of Dirt and Putrefaction on Media of Varying Salt Concentration. J. Hyg. (Londres). **31**: 84-95. ilustr. 1931.
- 26) SEOANE, P. — La Industria de las Carnes en el Uruguay. Vol. I. Montevideo, 1928.
- 27) STATHER, F. — "Rote Verfärgung" und "Rote" Erhitzung auf Gesalznen Häuten. (5. Mitteilung über Häute und Lederschäden Von M. Bergman und F. Stather) Collegium N^o 713: 427-437 Ilustr. 1930.
- 28) STUART, L. S.; FREY, R. W. y JAMES, L. H. — Microbiological Studies of Salt in Relation to the Reddening of Salted Hides. U.S. Dpt. of Agr. Tech. Bull. N^o 383. 24 pags. ilustr. 1933.
- 29) TITSLER, J. y SANDHOLZER, L. A. — J. Bact. **31**: 575. 1936. (Citado por el Manuel Difco pág. 184. 9^a Ed. U.S.A.).