

DESCRIPCION DE UNA ESPECIE NUEVA
DE *Hansenula* Y UNA VARIEDAD NUEVA DE
Candida parapsilosis AISLADAS DEL POZOL

Teófilo Herrera,*
Miguel Ulloa * e
Irma Fuentes *

DE LA compleja y variada flora microbiana que se desarrolla espontáneamente en el pozol, masa de maíz fermentada que constituye un alimento fundamental en el sureste de México, han sido aisladas y estudiadas diversas especies de bacterias, levaduras y mohos, algunas de las cuales son potencialmente patógenas del hombre, aunque otras son saprobias y ofrecen perspectivas para ser utilizadas industrialmente (Herrera y Ulloa, 1970, 1971, 1973; Taboada, Herrera y Ulloa, 1971; Ulloa y Herrera, 1971, 1972).

En el presente trabajo es descrita una especie nueva de *Hansenula* aislada en 1971 de una muestra de pozol de Tapachula, Chiapas, México; también es descrita una nueva variedad de *Candida parapsilosis* aislada en 1972 de pozol de Tuxtla Gutiérrez Chiapas.

La especie nueva fue aislada de un cultivo de pozol en caldo lactosado, incubado a 37°C, y la variedad nueva fue aislada de un cultivo de pozol en medio de atole de maíz (suspensión de harina de maíz marca Minsa al 20%). El caldo lactosado fue utilizado para aislar enterobacterias, no levaduras, de manera que haber encontrado una nueva especie de levaduras con dicho medio fue un accidente afortunado. Los medios de cultivo a que fueron transferidas ambas levaduras para realizar su estudio fueron Difco, con excepción de los trozos de zanahoria, pepino y gis, y los medios de Fowell (acetato de sodio 0.5 g, agar 2.0 g, agua destilada 100ml), de Gorodkova (glucosa 0.1 g, peptona 1.0 g, cloruro de sodio 0.5 g, agar 2.0 g, agua destilada 100 ml) y de gis agar (glucosa 5.0 g, agar 2.0 g, extracto de levadura 0.5 g, carbonato de calcio 0.5 g, agua destilada 100 ml).

Las pruebas de fermentación de compuestos carbonados fueron hechas según el método de Wickerham (*in* Lodder, 1970) y las de asimilación de compuestos carbonados y nitrogenados con el método auxonográfico (Lodder y Kreger - Van

* Laboratorio de Micología, Departamento de Botánica del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, México 20, D. F.

Rij, 1952). La incubación de los cultivos se hizo a 25°C, excepto en los casos indicados.

Los autores agradecen al biólogo Roberto Velasco por haber facilitado la muestra de pozol procedente de Tapachula, Chis., así como al Dr. Miguel J. Yakamán y señor Francisco Ruiz del Instituto de Física de la UNAM, por haber tomado las fotomicrografías electrónicas de las ascosporas de *H. pozolis* presentada en este trabajo.

Hansenula pozolis Herrera, Ulloa y Fuentes, sp. nov.

Species homothallica. In agare cum decoctione maltosa coloniae orbiculata, albidae, mucilaginosae, suave, seminitidae, convexae; margines leves vel undulata. Mycelium verum carens, pseudomycelium praesens; cellulae fusiforme, cylindricae, ellipsoidae, ovatae vel subglobosae, 1 - 3.3 × 2.2 - 5.5 μ; asci tetrasporae, solitarii vel cantenata, 1.1 - 2.5 × 10 - 20 μ; ascosporae hemisphaericae vel lunatae, 2.2 × 3.5 - 5.5 μ. Pellicula non fit. Fermentatur glucosum, galactosum, fructosum, sucrosam, lactosum, et raffinosa. Non fermentatur L-sorbosum, maltosum, melibiosum, cellobiosum, D-xylosum, D-arabiosum, L-arabiosum, L-rhamnosum, D-trehalosum, melezitosum, et inulinum. Assimilantur nitrates, glucosum, galactosum, fructosum, sucrosam, maltosum, cellobiosum, lactosum, raffinosa, inulinum, D-xylosum, L-arabiosum, D-ribosum, ethanolum, glycerolum, ribitolum, D-mannitolum, D-glucitolum, acidum DL-lacticum, acidum succinicum, acidum citricum, et salicinum. Non assimilantur L-sorbosum, trehalosum, melibiosum, melezitosum, amyllum, D-arabiosum, L-rhamnosum, erithritolum, galactitolum, α-methyl - D-glucosidum, dextrinum, aesculinum, et inositol. Fiunt esteri. In medium sine vitaminae augmentum carens. Ut crescat, opus est biotino et acidum nicotinicum.

Hab. Isolatus de fermentacia massa maydis, vel "pozol", ex Tapachula, Chiapas, México. *Typus*: L-I MEXU, depositus in Lab. de Micología, Dept. de Botánica, Instituto de Biología, UNAM, México 20, D. F. México, et in collectione culturarum, Northern Regional Research Laboratory, Peoria, Ill., USA, NRRL Y-7571.

Crecimiento en extracto de malta agar: Después de 3 días, las colonias son vigorosas, blancas, cremosas, semibrillantes, circulares, de bordes enteros o algo ondulados, de consistencia algo mucilaginosa, convexas, con la superficie ligeramente irregular y pequeñas estriaciones radiales (Fig. 2A). Las células son de muy variada forma y tamaño; algunas son elípticas o elipsoidales, de 1.5 a 3 × 2 a 6 μ; otras son fusiformes o cilíndricas, de 1.1 a 1.5 × 3 a 6 μ; y otras, que forman parte del pseudomicelio, de 1.1 a 2.5 × 10 a 20 o más μ. Las células aisladas se reproducen asexualmente por gemación, formando, la mayoría, un brote polar o subpolar; otras células geman en ambos polos o en la periferia (Fig. 1A, B).

Crecimiento en extracto de malta líquido: Hay muy buen crecimiento, se forma un anillo pero no película y hay sedimento. Las células son de forma y tamaño semejantes a las cultivadas en el medio anterior.

Placa de Dalmau en agar para morfología de levaduras: Colonia con características semejantes en extracto de malta agar. Pseudomicelio bien desarrollado en condiciones anaeróbicas o microaerofílicas (Fig. 1A).

Esporulación: Abundante después de 3 días en extracto de malta agar, medios de Fowell y de Gorodkova, y trozos de zanahoria o pepino. Las ascas son de variada forma y tamaño; se desarrollan de cualquier tipo de célula, ya sea aislada o que forme parte del pseudomicelio (Fig. 1C y 2B); las ascas elipsoidales miden 3.5 × 6.6 μ, las globosas de 5 a 8 μ y las cilíndricas 2 × 10 a 15 μ. Las ascosporas, de 2 a 4 por ascas, son hemisféricas, en forma de sombrero o, la mayoría, en forma de creciente lunar, de 1.1 a 2.2 × 3.3 a 5.5 μ; otras de 4.4 × 5.5 μ o de 5.5 × 6.6 μ (Figs. 1C, 2B-E).

Fermentación +, producción de ácido y gas; A, ácido; -, ambos productos ausentes):

Glucosa +	Maltosa -
Galactosa +	Lactosa +
Sucrosa +	Rafinosa + 1/3
Celobiosa -	Melezitosa -
Melibiosa -	Trehalosa -
Inulina A	

Asimilación:

Glucosa +	D-Xilosa +
Galactosa +	D-Arabinosa -
L-Sorbosa -	L-Arabinosa +
Fructosa +	D-Ribosa + (débil)
Sucrosa +	L-Ramnososa -
Maltosa +	Etanol +
Celobiosa +	Glicerol +
Trehalosa -	Eritritol -
Lactosa +	Ribitol +
Melibiosa -	Galactitol -
Rafinosa +	D-Manitol +
Melezitosa -	D-Glucitol +
Inulina +	α-Metil-D-Glucósido -
Almidón soluble -	Salicina +
Acido succínico +	DL-Acido láctico +
Inositol -	Acido cítrico +
Esculina -	Dextrina -

Asimilación de nitrato de potasio: Positiva.

Crecimiento en medio libre de vitaminas: Negativo. La biotina y el ácido nicotínico estimulan el crecimiento.

Crecimiento en base nitrogenada para levaduras más 10% de cloruro de sodio y 5% de glucosa: Positivo.

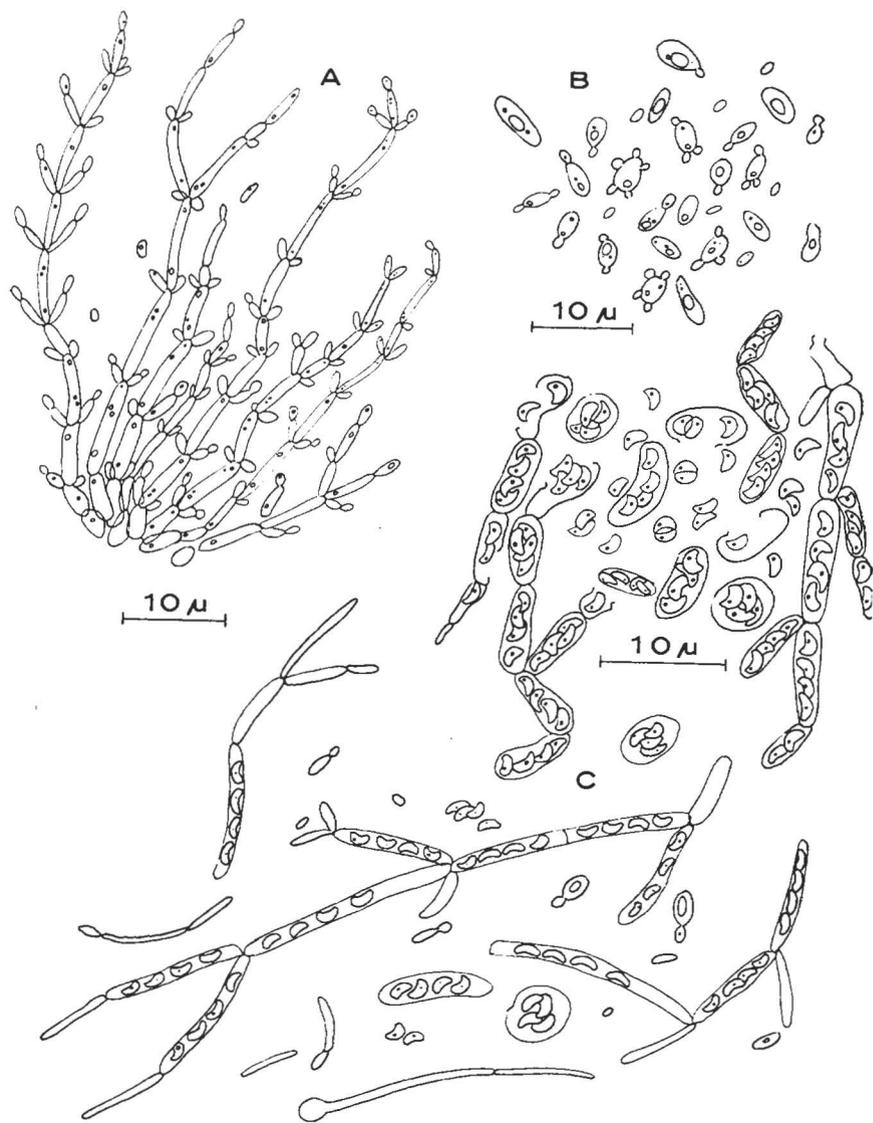


FIG. 1. *Hansenula pozolis*. A, pseudomicelio en placa de Dalmau. B, células en extracto de malta agar. C, ascas aisladas o formando parte del pseudomicelio, con ascosporas hemisféricas o en forma de media luna, en extracto de malta agar.

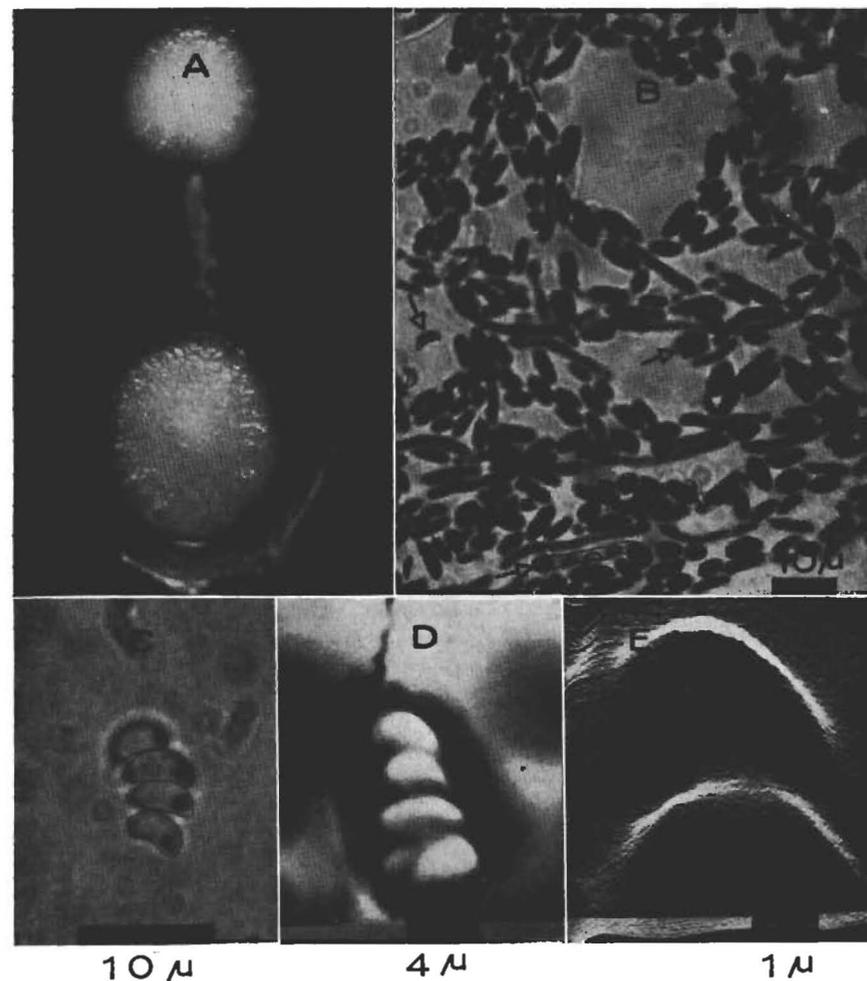


FIG. 2. *Hansenula pozolis*. A, colonias en extracto de malta agar. B, pseudomicelio con ascas y ascosporas, 1250 x. C, ascosporas, 2000 x. D, fotomicrografía electrónica de barrida de una ascas con ascosporas, 2500 x. E, fotomicrografía electrónica de barrida de dos ascosporas, 10,000 x (las líneas paralelas ondulantes son artefactos de la técnica de microscopía). Fotos. A-C, T. Herrera y M. Ulloa; Fotos. D-E Miguel J. Yakamán y Francisco Ruiz.

Crecimiento a 37°C: Positivo.

Producción de ésteres: Positiva; fuerte olor a esencia de plátano.

Desdoblamiento de grasas en Gorodkowa agar más 0.1% de carbonato de calcio y 5% de sebo de res: Negativo.

Licuefacción de la gelatina: Positiva, entre los 10 y 12 días.

Candida parapsilosis var. *tuxtlenis* Herrera, Ulloa y Fuentes, var. nov.

Species sine ascosporae. In agare cum decoctione maltosa coloniae orbiculata, albidae, suave, nitidae, convexae, aliquid plicata; pseudomycelium praesens, cellulae ellipsoidae, subglobosae vel clavatae 2.5 a 4 \times 2.5 a 15 μ . Pellicula non fit. Fiunt annulus. Glucosum fermentatur debilis. Fiunt acidus de glucosum, galactosum, sucrosus et raffinosis. Non fermentatur galactosum, sucrosus, maltosum, cellobiosum, trehalosum, lactosum, melibiosum, raffinosis, melezitosum, et inulinum. Assimilantur glucosum, galactosum, L-sorbosum, sucrosus, maltosum, trehalosum, raffinosis, melezitosum, D-xylosum, L-arabinosum, ethanolum, glycerolum, ribitolum, D-mannitolum, D-glucitolum, α -methyl-D-glucosidum, et acidum succinicum. Non assimilantur nitras, cellobiosum, lactosum, melibiosum, inulinum, amylo, D-arabinosum, D-ribosum, L-rhamnosum, erithritolum, galactitolum, salicinum, acidum DL-lacticum, acidum citricum, et inositolum. Ut crescat, opus est biotino, thiamino, acidum nicotinicum, et calcium pantothenatum.

Hab. Isolatus de fermentacia massa maydis, vel "pozol", ex Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México, *Typus*: L-2 MEXU, depositus in Lab. de Micología, Dept. de Botánica, Instituto de Biología, UNAM, México 20, D. F. México, et in collectione culturarum, Northern Regional Research Laboratory, Peoria, Ill., USA, NRRL Y-7572.

Crecimiento en extracto de malta agar: Después de 8 días, las colonias son vigorosas, blancas, cremosas, brillantes, convexas, de bordes fimbriados con la superficie lisa o con pequeñas protuberancias (Fig. 3A). Las células son de forma y tamaño variables; algunas son esferoidales o elípticas, de 1.5 a 3 μ , \times 3.5 a 4.5 μ , con un brote polar o subpolar, de 1.5 a 3.5 μ , o con dos brotes; otras células son alargadas o claviformes, de 1.5 a 2 μ \times 8 a 10 o más μ (Fig. 3E).

Crecimiento en agar para morfología de levaduras: Con características semejantes a las descritas para el medio anterior, excepto que la colonia gigante es opaca y papilada en la superficie (Fig. 3B).

Crecimiento en extracto de malta líquido: Buen desarrollo con turbidez, sedimento y anillo; sin película. Las células son de tamaño y forma semejantes a las cultivadas en el medio anterior.

Placa de Dalmau en agar para morfología de levaduras: Colonia con características semejantes a las desarrolladas en extracto de malta agar. Pseudomicelio mejor desarrollado en condiciones microaerofílicas (Fig. 3C, D).

Esporulación: Negativa en extracto de malta agar, medios de Fowell y de Gorodkowa, trozos de pepino, zanahoria y gis.

Fermentación (+, producción de ácido y gas; A, ácido; —, ambos productos ausentes):

Glucosa + (formación de gas tardía)	Maltosa —
Galactosa A	Lactosa —
Sucrosa A	Rafinosa A
Celobiosa —	Melibiosa —
Inulina —	Melezitosa —
Trehalosa —	

Asimilación:

Glucosa +	D-Ribosa —
Galactosa +	L-Rammosa —
L-Sorbosa + (débil)	Etanol +
Sucrosa +	Glicerol +
Maltosa +	Eritritol —
Celobiosa —	Ribitol +
Trehalosa +	Galactitol —
Lactosa —	D-Manitol +
Melibiosa —	D-Glucitol +
Rafinosa +	α -Metil-D-Glucósido +
Melezitosa +	Salicina —
Inulina —	DL-Acido láctico —
Almidón soluble —	Acido succínico +
D-Xilosa +	Acido cítrico —
L-Arabinosa +	Inositol —
D-Arabinosa —	

Asimilación de nitrato de potasio: Negativa:

Asimilación de nitrito de sodio: Negativa.

Crecimiento en medio libre de vitaminas: Positivo, débil; biotina, tiamina, ácido nicotínico y pantotenato de calcio estimulan el crecimiento.

Crecimiento a 30°C: Positivo; a 36°C: Positivo.

Formación de ácido en medio de gis agar: Positiva, débil.

Licuefacción de la gelatina: Negativa.

Crecimiento en medio de 50% (peso/peso) glucosa y extracto de levadura agar: Positivo.

Crecimiento en malta agar con 8 a 17% de cloruro de sodio: Positivo.

DISCUSION

Hansenula pozolis, si se compara con *H. petersonii* Wickerham, una de las dos especies más cercanas, tomando en consideración el juego de características morfológicas y fisiológicas indicado en una de las claves más aceptadas del género *Hansenula* (Lodder, 1970), presenta pseudomicelio (Fig. 1A), no micelio verdadero, y ascosporas hemisféricas, en forma de sombrero o de creciente lunar; esta última forma de ascosporas no está descrita para la segunda especie

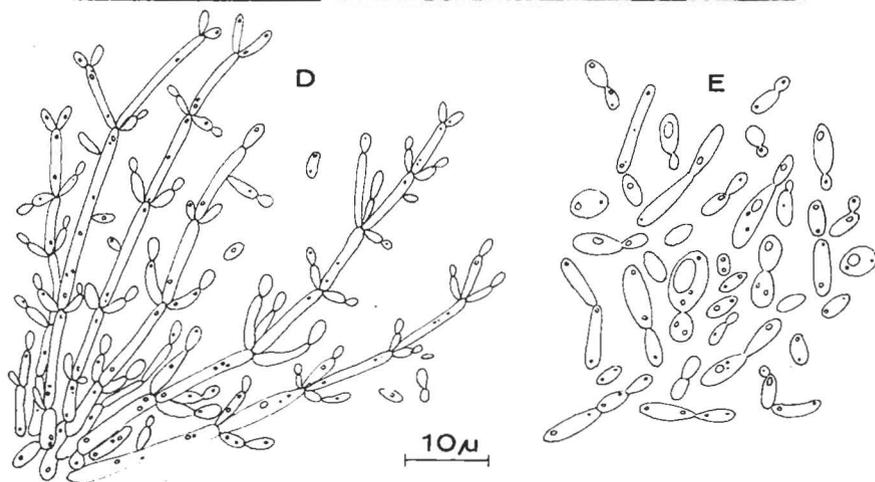
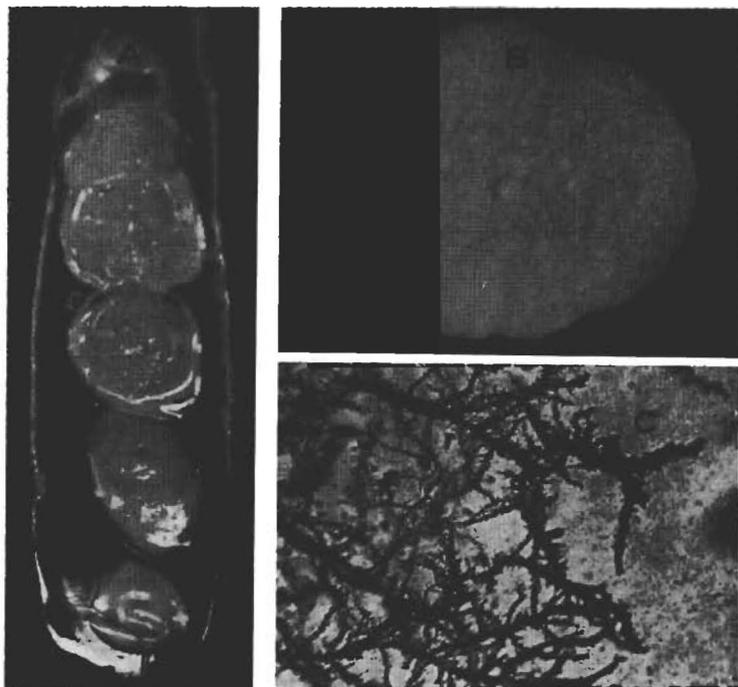


FIG. 3. *Candida parapsilosis* var. *tuxtlenensis*. A, colonias en extracto de malta agar. B, colonia gigante en agar para morfología de levaduras. C y D, pseudomicelio en placa de Dalmat, E, células en extracto de malta agar.

mencionada; además, las ascas de *H. pozolis*, pueden originarse de células aisladas o de las que están encadenadas en el pseudomicelio (Fig. 1C).

Ambas especies fermentan glucosa, sucrosa y rafinosa 1/3, y no fermentan maltosa; pero *H. pozolis* fermenta, además, galactosa y lactosa. Ambas especies asimilan glucosa, sucrosa, maltosa, celobiosa, rafinosa, inulina, xilosa, etanol, glicerol, manitol, glucitol, salicina, ácido láctico, ácido succínico y ácido cítrico; pero no asimilan sorbosa, melibiosa, almidón soluble, D-arabinosa, eritritol, galactitol e inositol. *H. pozolis* asimila, además, galactosa, lactosa, L-arabinosa, ribosa y ribitol; pero no asimila trehalosa, melezitosa, ramnosa y alfa metil glucósido. Ambas especies asimilan nitratos, crecen a 37°C, producen ésteres y no crecen en medio libre de vitaminas; pero *H. pozolis* crece en base nitrogenada para levaduras más 10% de cloruro de sodio y 5% de glucosa.

En el presente trabajo se considera nueva la especie descrita de *Hansenula*, aislada del pozol, por tener 3 diferencias morfológicas y 13 fisiológicas con respecto a *H. petersonii* levadura que sólo ha sido aislada de cadáveres humanos.

Candida parapsilosis var. *tuxtlenensis* difiere de la variedad típica de *C. parapsilosis* porque asimila la rafinosa. Es interesante anotar que esta última es patógena facultativa del hombre y algunos animales y ha sido aislada de muy diversas fuentes, entre ellas, uñas humanas enfermas, piel de la cara, membranas cerebrales, impétigo, endocarditis, blastomicosis interdigital, boca y garganta de personas sanas y enfermas, heces fecales y contenidos estomacales de humanos y de animales, además del pulque, bebida fermentada típica de México (Sánchez Marroquín, 1955 a). Por el momento no se conoce el posible papel patógeno de *C. parapsilosis* var. *tuxtlenensis* para el hombre, en particular para las personas que manejan y consumen el pozol; pero considerando que *C. parapsilosis* tiene un alto contenido proteico (Sánchez Marroquín, 1955 b; 1962), la variedad nueva aquí descrita también podría tener un papel benéfico desde el punto de vista nutricional.

LITERATURA CITADA

- Herrera, T. y M. Ulloa. 1970. Aspectos generales sobre la microbiología del pozol. *Rev. lat-amer. Microbiol.* 12: 103-108.
- . 1971. Estudio de *Candida krusei* y *Trichosporon cutaneum* aislados del pozol. *Rev. lat-amer. Microbiol.* 13: 255-261.
- . 1973. Estudio de *Hansenula fabianii* aislada del pozol. *An. Inst. Biol. Univ. Nal. Autón. México* 44, Ser. Bot. (en prensa).
- Lodder, J., 1970. *The yeasts, a taxonomic study*. North Holland Publishing Co., Amsterdam, 1385 p.
- y N. J. W. Kreger-Van Rij, 1952. *The yeasts, a taxonomic study*. North Holland Publishing Co., Amsterdam, 735 p.
- Sánchez Marroquín, A. 1955a. Estudios sobre la microbiología del pulque XV. Presencia de *Candida parapsilosis* (Ashf.) Langeron et Talice. *Ciencia, Méx.* 15: 129-135.
- . 1955b. Estudios sobre la microbiología del pulque XVI. Propagación de *Candida parapsilosis* y otras levaduras de este substrato. *Ciencia, Méx.* 15: 136-140.
- . 1962. Aspectos metabólicos de las levaduras del pulque. *Rev. Soc. Mex. Hist. Nat.* 23: 1-20.

- Taboada, J., T. Herrera y M. Ulloa, 1971. Prueba de la reducción del acetileno para la determinación de microorganismos fijadores de nitrógeno aislados del pozol. *Rev. lat-amer. Quím.* 2: 188-191.
- Ulloa, M. y T. Herrera, 1971. Mohos aislados del pozol en medios con deficiencia o carencia de nitrógeno. *Bol. Soc. Mex. Mic.* 5: 13-21.
- , 1972. Descripción de dos especies nuevas de bacterias aisladas del pozol: *Agrobacterium azotophilum* y *Achromobacter pozolis*. *Rev. lat-amer. Microbiol.* 14: 15-24.
- , 1973. *Phialophora richardsiae*, un hongo causante de feosporotricosis en el hombre, aislado del pozol. *Rev. lat-amer. Microbiol.* (en prensa).

RESUMEN

Se hace la descripción de una especie nueva del género *Hansenula*: *H. pozolis* Herrera, Ulloa et Fuentes, y de una variedad nueva de la especie *Candida parapsilosis*: *C. parapsilosis* var. *tuxtlensis* Herrera, Ulloa et Fuentes. Ambas levaduras fueron aisladas del "pozol", masa de maíz fermentada que se utiliza como un alimento básico en el sureste de México.

SUMMARY

It is described a new species of the genus *Hansenula*: *H. pozolis* Herrera, Ulloa & Fuentes, and a new variety of the species *Candida parapsilosis*: *C. parapsilosis* var. *tuxtlensis* Herrera, Ulloa & Fuentes. Both yeasts were isolated from "pozol", fermented maize dough used as a basic food in southeastern Mexico.