

DESCRIPCION DE UNA VARIEDAD
NUEVA DE *Kloeckera corticis* AISLADA DEL
PULQUE

Por Miguel Ulloa* y
Teófilo Herrera*

SÁNCHEZ MARROQUÍN (1962) hizo un análisis de los estudios que, durante 92 años, habían sido realizados en México sobre diversos aspectos relacionados con la microbiología del pulque; presentó, en orden cronológico de 1870 a 1957, una lista de trabajos sobre las levaduras del pulque hasta entonces aisladas y estudiadas por varios investigadores y, como parte fundamental de su publicación, incluyó los estudios metabólicos hechos con cinco especies aisladas del pulque: *Saccharomyces carbajali* Ruiz Oronoz, *Pichia barragani* Ruiz Oronoz, *Torulopsis aquamellis* Ruiz Oronoz, *T. hydromelitis* Ruiz Oronoz y *Candida parasitosis* (Asford) Langeron et Talice, las cuatro primeras estudiadas y descritas por Ruiz Oronoz (1938; 1939; 1940; 1941). Ruiz Oronoz (1942) describió otra especie de levadura nueva del pulque, *Rhodotorula incarnata*.

En el presente trabajo es descrita una variedad nueva de *Kloeckera corticis* (Kloecker) Janke, aislada en extracto de malta agar de una muestra de pulque (proveniente de Santa Rosa, México, D. F.) en la cual la fermentación del aguamiel o secreción azucarada del maguey (*Agave atrovirens* Karw.) no estaba muy avanzada, a juzgar por su bajo grado de viscosidad y contenido alcohólico.

Los medios de cultivo en que fue sembrada la variedad nueva 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 100 ml), de Gorodkowa (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 azúcares fueron realizadas según el método de Wickerham (*in* Lodder, 1970) y las de asimilación de sustancias carbonadas y nitrogenadas con el método auxanográfico (Lodder y Kreger-van Rij, 1952). La incubación de los cultivos se hizo a 25° C, excepto en los casos indicados.

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

Kloeckera corticis var. *pulquensis* Ulloa y Herrera, var. nov.

Species sine ascorporae. In agar cum decoctione maltosa coloniae orbiculata, suave, micantis, convexae, albidae, deinde brunneo-flavus cum textura granulata, margines undulata. Mycelium et pseudomycelium carens; cellulae uni vel bi-apiculata, ellipsoidae, clavatae vel subglobosae, 1.5 a 4.5 \times 1.5 a 15 μ . Pelli-cula non fit. Fermentatur glucosum. Non fermentatur galactosum, sucrosum, maltosum, lactosum, raffinose, et melibiosum. Assimilantur glucosum, galactosum, maltosum, et salicinum. Non assimilantur nitras, L-sorbose, sucrosum, cellobiosum, trehalosum, lactosum, melibiosum, raffinose, melezitose, inulinum, amyllum, xylosum, L-arabinosum, D-arabinosum, D-ribosum, L-rihamnosum, ethanolum, glycerolum, erithritolum, ribitolum, galactitolum, D-mannitolum, D-glucitolum, α -methyl -D-glucosidum, salicinum, acidum DL-lacticum, acidum succinicum, acidum citricum, et inositolum. Fiunt esteri. In medium sine vitaminae augmentum carens. Ut crescat, opus est thiamino, biotino, pyridoxino, acidum nicotinicum, calcium panthotenatum, et inositolum.

Hab. Isolatus de fermentacio aquamellis, vel "pulque" de "maguey" (*Agave atrovirens* Karw.), ex Santa Rosa, México, D. F. *Typus*: L-3 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-7575.

Crecimiento en extracto de malta agar: Colonias de crecimiento moderado, cremosas, brillantes, convexas, circulares, de bordes ondulados, al principio blancas y después de 2 ó 3 semanas se tornan moreno amarillentas; vistas contra la luz son de textura granulosa. Las células son de variados tamaños y formas, pero predominan las uni- o bi- apiculadas, de 1.5 a 4.5 \times 1.5 a 15 μ , con los apículos redondeados o piriformes, que se transforman en yemas y se separan posteriormente de la célula madre por medio de un tabique ancho. Al gemar las células, los brotes pueden permanecer unidos a la célula madre formando cadenas de 2 ó 3 elementos, hasta de 20 a 25 μ de largo, y adoptan con frecuencia formas de boliche (Fig. 1C).

Crecimiento en extracto de malta líquido: Buen desarrollo con turbidez y sedimentación pero sin formación de anillo y velo; la morfología de las células es semejante a la descrita para el medio anterior.

Placa de Dalmau en agar para morfología de levaduras: Pseudomicelio ausente, aun después de 8 días. Las células tienen la misma morfología que en los medios anteriores. La colonia gigante en agar para morfología de levaduras (Fig. 1A) tiene características similares a las de las colonias en extracto de malta agar.

Esporulación: Negativa en extracto de malta agar, medios de Fowell y de Gorodkova, trozos de zanahoria (Fig. 1 B), pepino y gis.

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

Glucosa +	Maltosa A
Galactosa A	Lactosa —
Sucrosa A	Rafinosa —
	Melibiosa —

Asimilación:

Glucosa +	D-Ribosa —
Galactosa +	L-Ramnosa —
L-Sorbose —	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: Negativo.

Para crecer necesita tiamina, biotina, piridoxina, ácido nicotínico, pantotenoato de calcio, e inositol.

Crecimiento a 30°C: Débil; *a 37°C*: Negativo.

Formación de ácido en medio de gis agar: Débil.

Licuefacción de la gelatina: Negativa.

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

Crecimiento en extracto de malta agar más cloruro de sodio al 8%: Débil; *al 17%*: Negativo.

Producción de ésteres: Positiva.

DISCUSION:

K. corticis ha sido aislada de varios substratos como cortezas de árboles, de líquenes y musgos cortícolas, de uvas y mosto de uvas, así como de especies silvestres de *Drosophila* (Lodder, 1970).

No obstante que la microflora del pulque ha sido intensamente estudiada, parece ser que el aquí presentado es el primer registro sobre el aislamiento de una levadura apiculada del género *Kloeckera*. Ya es sabido que en el pulque

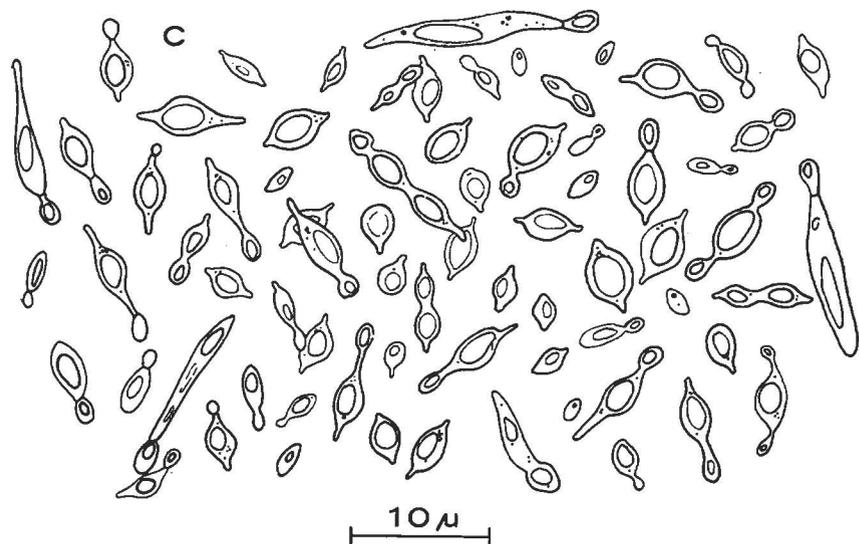
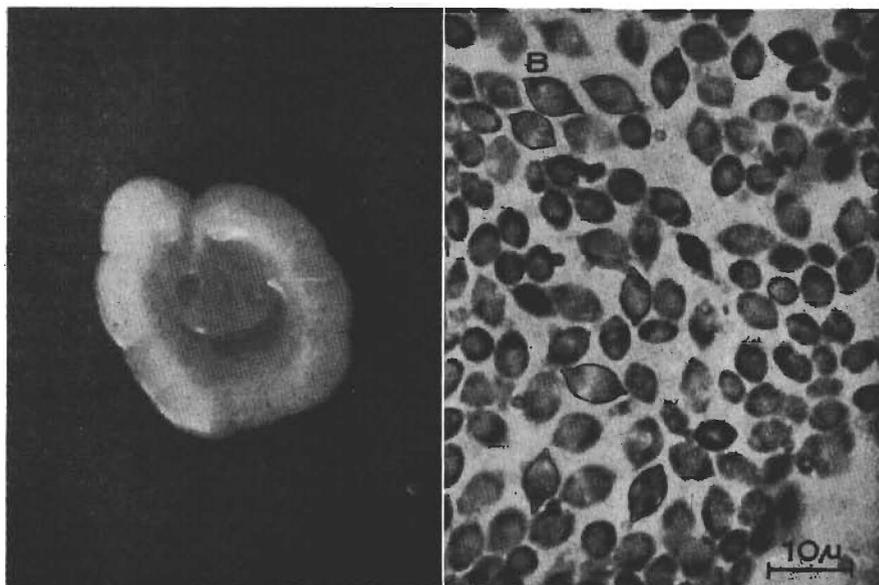


FIG. 1. *Kloeckera corticis* var. *pulquensis*. A, colonia gigante en agar para morfología de levaduras a los 10 días. B, células cultivadas 3 semanas en trozos de zanahoria, 2000X. C, células cultivadas en extracto de malta agar.

Leuconostoc mesenteroides (Cienkowsky) van Tieghem y *L. dextranicum* (Beijerinck) Hucker & Pederson, son los productores de la viscosidad y que *Saccharomyces carbagali* y *Zymomonas mobilis* (Lindner) Kluyver & van Niel son los microorganismos causantes de la fermentación alcohólica del aguamiel; sin embargo, no se sabe cuál es el papel que pueda desempeñar *K. corticis* var. *pulquensis* en la transformación del aguamiel en pulque, ni la constancia de dicha levadura en este proceso. La nueva variedad difiere de la variedad típica en que no forma pseudomicelio en placa de Dalmau, en su capacidad para asimilar galactosa y en su incapacidad para asimilar celobiosa.

Aunque se intentó que esta variedad nueva esporulara en los medios de cultivo especiales para tal propósito, no se logró obtener la fase perfecta, que en el caso de *K. corticis* corresponde a *Hanseniaspora osmophila* (Niehaus) Phaff, Miller & Shifrine. Esta última posee el mismo juego de características fisiológicas que la forma imperfecta, pero no forma pseudomicelio o éste es muy rudimentario, formado por cadenas cortas de células y sin blastosporas típicas. Respecto a la ausencia de pseudomicelio en cultivos en placa de Dalmau, la nueva variedad aquí descrita se asemeja algo más a la forma perfecta que a la imperfecta.

En un trabajo anterior (Herrera, Taboada y Ulloa, 1973) se indicó la capacidad de fijación de nitrógeno, evidenciada por medio de la reducción del acetileno, por microorganismos del pulque cuando este material era inoculado en masa de maíz o en medio de Burk. *K. corticis* var. *pulquensis* no fijó nitrógeno en esas condiciones.

LITERATURA CITADA

- Herrera, T., J. Taboada y M. Ulloa, 1972. Fijación de nitrógeno en el tesgüino y el pulque. *An. Inst. Biol. Univ. Nat. Autón. México*, 43. Ser. Biol. Exp. (en prensa).
- Lodder, J., 1970. *The yeasts, a taxonomic study*. North Holland Publishing Co., Amsterdam, 1385 p.
- Lodder, J. y N. J. W. Kreger-van Rij, 1952. *The yeasts, a taxonomic study*. North Holland Publishing Co., Amsterdam, 735 p.
- Ruiz Oronoz, M., 1938. Contribución al conocimiento de las levaduras del aguamiel y del pulque. I. *Saccharomyces carbagali*. *An. Inst. Biol. Univ. Nat. Autón. México*, 9: 49-80.
- , 1938. *Ibid.* II. *Pichia barragani* n. sp. *Ibid.* 10: 191-212.
- , 1940. *Ibid.* III. *Torulopsis hydromelitis* n. sp. *Ibid.* 11: 539-554.
- , 1941. *Ibid.* IV. *Torulopsis acquamellis* sp. nov. *Ibid.* 12: 49-68.
- , 1942. *Ibid.* *Rhodotorula incarnata* n. sp. *Ibid.* 13: 1-21.
- Sánchez Marroquín, A. 1962. Aspectos metabólicos de las levaduras del pulque. *Rev. Soc. Mex. Hist. Nat.* 23: 1-20.

RESUMEN

Es descrita una variedad nueva de *Kloeckera corticis*, *K. corticis* var. *pulquensis* Ulloa y Herrera, aislada del pulque, bebida mexicana producida por fermentación alcohólica del aguamiel o secreción azucarada del maguey (*Agave atrovirens* Karw.). La variedad nueva difiere de la típica en que no forma pseudomicelio en placa de Dalmau, así como en su capacidad para asimilar la galactosa y su incapacidad para asimilar la celobiosa.

SUMMARY

It is described a new variety of *Kloeckera corticis*, *K. corticis* var. *pulquensis* Ulloa & Herrera, isolated from pulque, Mexican beverage produced by alcoholic fermentation of "aguamiel" or sugary secretion of "maguey" (*Agave atrovirens* Karw.). The new variety differs from the typical one because it does not form pseudomycelium in Dalmau plate cultures, as well as its ability to assimilate galactose and its inability to assimilate cellobiose.