

Saccharomyces cerevisiae y *Saccharomyces uvarum* AISLADOS
DE DIFERENTES MUESTRAS DE TEGÜINO
DE JALISCO, MEXICO

Por Miguel Ulloa*,
Teófilo Herrera* y
Javier Taboada**

Continuando con los estudios microbiológicos de la bebida fermentada de nominada tesgüino, o tejuino, publicados anteriormente (Herrera y Ulloa, 1973; Ulloa, Salinas y Herrera, 1974), en el presente trabajo se comunica el aislamiento (e identificación) de *Saccharomyces cerevisiae* a partir de tesgüino de la Barca, Jal., y de *Saccharomyces uvarum* a partir de tesgüino de Guadalajara, Jal.

A diferencia de las muestras de tesgüino previamente estudiadas, las que se utilizaron para aislar las levaduras antes mencionadas fueron elaboradas por tesgüineros mestizos, no indígenas. El tesgüino mestizo puede ser elaborado de diversas maneras, ya sea que los granos de maíz germinados en la obscuridad sean molidos, cocidos en agua y dejados a fermentar; o que los granos de maíz no germinados sean tostados, molidos, cocidos en agua y dejados a fermentar; o bien que los granos de maíz no germinados sean sometidos a un proceso de nixtamalización, para después molerlos y dejados a que fermenten. En todos los casos se agrega piloncillo (trozos de azúcar cruda) antes de que se inicie la fermentación espontánea. El tiempo de fermentación varía según las condiciones ambientales, pero comúnmente es de unos dos o tres días si el tesgüino es elaborado, como es costumbre, durante los meses cálidos del año.

Otras diferencias importantes entre el tesgüino preparado por mestizos y el tesgüino elaborado por diversos grupos indígenas, consisten en que al primero no se le añaden infusiones o triturados de otras plantas (considerados como "catalizadores"), además de que es consumido como bebida refrescante, frecuentemente adicionado de jugo de limón o nieve de limón, y no como un complemento importante de la dieta diaria o con fines ceremoniales, que es la forma

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

** Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Contribución No. 468.

en que los indígenas de la parte central y noroeste de México consumen el tesgüino (Pennington, 1963, 1969; Cruz Ulloa y Ulloa, 1973).

Las muestras de tesgüino utilizadas para hacer los aislamientos de las levaduras aquí citadas fueron compradas en relresquerías en mayo de 1977. Debido a que las personas que comercian con el tesgüino consideran que el proceso de elaboración por ellos utilizado tiene un valor económico, y por tanto no divulgable, no se puede especificar aquí la manera en que fueron elaboradas las muestras de tesgüino estudiadas.

Las levaduras fueron aisladas por el método de las estrías múltiples en medio de V8 agar. Posteriormente, a partir de colonias puras, se hicieron re-siembras a los medios Difco, excepto los de V8, de Fowell y de Gorodkova, utilizados para el estudio de las dos cepas de levaduras. Las pruebas de fermentación y asimilación de carbohidratos, así como las de asimilación de nitratos, fueron hechas según el método de Wickerham (*in* Lodder, 1970).

A continuación se indican las características morfológicas y fisiológicas de las cepas estudiadas.

Saccharomyces cerevisiae Hansen

Crecimiento en extracto de malta agar: Escaso y lento. Las colonias son blancas, cremosas, pequeñas, convexas, brillantes, de borde entero o ligeramente lobado.

Crecimiento en extracto de malta líquido: Con poco sedimento, sin anillo ni película, aún después de 40 días.

Crecimiento en V8 agar: Vigoroso. A los 20 días, la colonia gigante es de color blanco crema a crema moreno, butirosa, convexa, con surcos radiales y borde estriado; en algunas regiones de la colonia adquiere aspecto cerebriiforme (Fig. 1). El cultivo es muy aromático. Las células vegetativas son esferoidales, subglobosas, ovoides o elipsoidales, con uno o dos brotes polares o subpolares; miden de $2 \text{ a } 5 \times 2.5 \text{ a } 10 \text{ }\mu\text{m}$. Las ascas miden de $8 \text{ a } 10 \text{ }\mu\text{m}$ y las ascosporas miden de $2 \text{ a } 2.5 \text{ }\mu\text{m}$.

Placa de Dabnau en harina de maíz agar: Forma abundanteseudomicelio, tanto debajo del cubreobjetos como fuera de él.

Esporulación: Abundante en V8 agar, Fowell y Gorodkova. Ascas con 2 a 4 ascosporas esteroidales cada una.

Fermentación:

Glucosa +	Melibiosa -
Galactosa +	Rafinosa +
Sucrosa +	Melezitosa -
Maltosa +	Inulina -
Celobiosa -	Almidón soluble -
Trehalosa -	α -Metil-D-Glucósido -
Lactosa -	

Asimilación:

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

Asimilación de nitrato de potasio: Negativa.

Crecimiento en medio libre de vitaminas: Negativo. El ácido para amino benzoico, la biotina y el ácido pantoténico estimulan el crecimiento.

Crecimiento a 37°C: Positivo.

Saccharomyces uvarum Beijerinck

Crecimiento en extracto de malta agar: Escaso y lento. Colonias blancas, cremosas, pequeñas y poco brillantes.

Crecimiento en extracto de malta líquido: Abundante sedimento, pero sin película ni anillo, aún después de 40 días.

Crecimiento en V8 agar: Vigoroso. A los 20 días, la colonia gigante es blanca, cremosas, poco brillante, convexa, con algunos surcos radiales y escasamente verrucosa en el centro; de borde lobado (Fig. 2). Con el tiempo, la colonia se torna ligeramente morena. Las células vegetativas son esferoidales, subglobosas, ovoides o elipsoidales, con uno o dos brotes polares o subpolares; miden de $3 \text{ a } 5 \times 5 \text{ a } 10 \mu\text{m}$. Las ascas miden de $8 \text{ a } 10 \mu\text{m}$ y las ascosporas miden de $2 \text{ a } 2.5 \mu\text{m}$.

Placa de Dalmau en harina de maíz agar: Forma pseudomicelio poco desarrollado.

Esporulación: Abundante en V8 agar, Fowell y Gorodkova. Ascas globosas, con 2 a 4 ascosporas esferoidales cada una.

Fermentación:

Glucosa +	Melibiosa + (fuerte)
Galactosa +	Rafinosa +
Sucrosa + (lenta)	Melezitosa -
Maltosa + (fuerte)	Inulina -

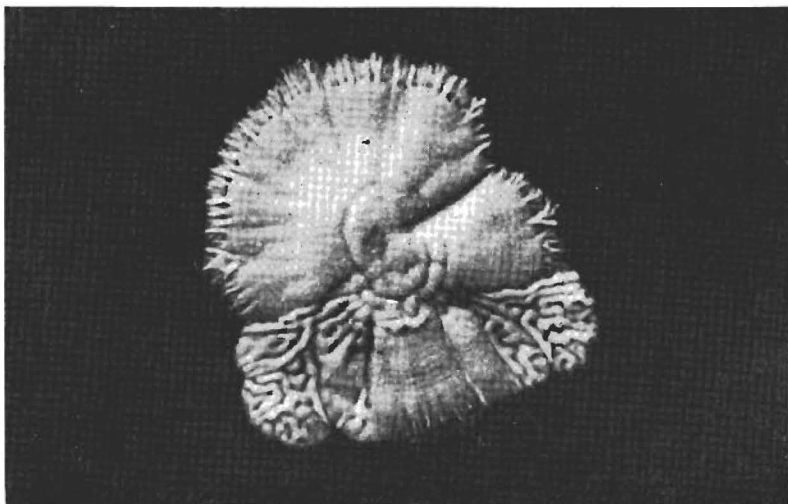


FIG. 1. Colonia gigante de *S. cerevisiae*, a los 20 días en V8 agar. X 3.



FIG. 2. Colonia gigante de *S. uvarum*, a los 20 días en V8 agar. X 3.

Celobiosa —
Trehalosa +
Lactosa —

Almidón soluble —
 α -Metil-D-Glucósido + (débil)

Asimilación:

Glucosa +
Galactosa +
L-Sorbose —
Sucrosa +
Maltosa +
Celobiosa —
Trehalosa +
Lactosa —
Melibiosia +
Rafinosa +
Melezitosa +
Inulina +
Almidón soluble —
D-Xilosa —
L-Arabinosa —
D-Arabinosa —

D-Ribosa +
L-Ramnosa —
Etanol +
Glicerol —
Eritritol —
Ribitol —
Galactitol —
D-Manitol —
D-Glucitol —
 α -Metil-D-Glucósido +
Salicina —
DL-Acido láctico +
Acido succínico —
Acido cítrico —
Inositol —
Control (sin fuente de carbono) —

Asimilación de nitrato de potasio: Negativa.

Crecimiento en medio libre de vitaminas: Débil. El inositol y el ácido pantoténico estimulan el crecimiento.

Crecimiento a 37°C: Positivo.

DISCUSION

El hecho de haber encontrado a *S. cerevisiae* en el tesguino de La Barca, Jal. indica que esta levadura parece ser uno de los microorganismos más constantes en el proceso de fermentación de esta cerveza de maíz. Esta misma especie de levadura fue aislada por Herrera y Ulloa (1973) de dos muestras de tesguino preparadas por tarahumares de Yerba Buena, Barranca de Batopilas, y de Creel, Chihuahua, una de ellas fermentada con *Bromus* sp. y otra sin él; no obstante, la cepa de *S. cerevisiae* considerada en el presente trabajo resultó ser ascospórogena, a diferencia de las cepas aisladas del tesguino de Chihuahua, las cuales no formaron ascosporas en ninguno de los medios de cultivo probados. *S. cerevisiae* es una levadura de muy amplia distribución en la naturaleza, aunque más frecuentemente asociada con las industrias de la fermentación, en particular en la producción de cervezas, vinos y, en forma comprimida, de levadura para la panificación y como fuente de vitaminas, aminoácidos y gran diversidad de enzimas. *S. cerevisiae* fue también encontrada por Ulloa y Kurtzman (1975) en pozol de Tabasco, México; el pozol es una masa de maíz fermentada que, desleída en agua, es consumida como un alimento básico por grupos indígenas y mestizos en el sureste de México, el cual ha sido objeto de varios estudios microbiológicos (Ulloa, 1974).

En el tesgüino de Guadalajara, Jal. no se encontró *S. cerevisiae*, pero sí *S. uvarum* que es una especie muy cercana a *S. cerevisiae* y considerada por Iodder (1970) como una especie que derivó de ella por la adquisición de melibiasa, enzima que le permite fermentar la melibiosa. *S. uvarum* parece estar comúnmente asociada con industrias de fermentación, particularmente con la producción de vinos y cervezas.

La presencia de *S. cerevisiae* en las muestras de tesgüino hasta la fecha estudiadas permite asumir que ésta es la principal levadura involucrada en la fermentación del mismo, aunque otras especies de levaduras relacionadas, como *S. uvarum*, y bacterias, se pueden encontrar en esta bebida debido a la falta de control en su elaboración.

Como ha sido ya comunicado (Herrera, Taboada y Ulloa, 1972), en el tesgüino de Chihuahua se determinó la presencia de microorganismos fijadores de nitrógeno, ya que al inocular tesgüino en medio de atole de masa de maíz, o en medio de Burk, se registró reducción de acetileno a etileno, lo que indica la presencia del sistema nitrogenasa. Es interesante mencionar que en el tesgüino de Guadalajara (aunque no en el de La Barca) utilizado para el presente estudio se encontró el mismo fenómeno de reducción de acetileno, tanto en la muestra de tesgüino directamente sometida a la prueba de la reducción, como en el medio de atole de masa de maíz inoculado con el tesgüino y después analizado. Los autores de la presente comunicación están actualmente estudiando una cepa bacteriana que fue aislada del tesgüino de Guadalajara (el que redujo acetileno) en medio 77 de Fred y Waksman modificado (Allen, 1951), que es un medio de cultivo carente de nitrógeno comúnmente utilizado para aislar y cultivar bacterias, como *Azotobacter*, que fijan nitrógeno del aire. Es notable el hecho de que el fenómeno de la fijación microbiana de nitrógeno se suceda con frecuencia en el tesgüino y en el pozol, ambos alimentos de maíz fermentado nativos de México (Taboada, Herrera y Ulloa, 1972).

Debido a la gran variedad en los ingredientes utilizados en la elaboración del tesgüino, en las maneras de prepararlo por los diversos grupos étnicos de México y en las condiciones ambientales de los diferentes lugares en donde se prepara y consume, es interesante continuar estudiando la microflora relacionada con la fermentación del tesgüino, para poder, por una parte, dilucidar cuáles son los microorganismos básicos que determinan las características de esta bebida y, por otra, encontrar otros posibles usos de los microorganismos aislados, por ejemplo la elaboración de nuevos tipos de alimentos enriquecidos con la intervención de microorganismos fijadores de nitrógeno. También sería conveniente realizar estudios sobre la bioquímica de la fermentación del tesgüino, así como conocer las capacidades fermentadoras de las cepas de *Saccharomyces* aisladas del tesgüino y del pozol, con el objeto de utilizarlas en la industria para la producción de etanol o de otros metabolitos.

AGRADECIMIENTOS

Se reconoce la valiosa ayuda de la M. en C. Cora Salinas en la elaboración de los medios de cultivo empleados en este estudio.

LITERATURA CITADA

- Allen, O. N., 1951. *Experiments in soil bacteriology*. Burgess Publishing Co., Minneapolis, pp. 58-59.
- Cruz Ulloa, S. y M. Ulloa, 1973. Alimentos fermentados de maíz consumidos en México y otros países latinoamericanos. *Rev. Soc. Mex. Hist. Nat.* 34: 423-457.
- Herrera, T., J. Taboada y M. Ulloa, 1972. Fijación de nitrógeno en el tesgüino y el pulque. *An. Inst. Biol. Univ. Nat. Autón. Méx.*, 43, Ser. Biol. Exp. (1): 77-78.
- Herrera, T. y M. Ulloa, 1973. *Saccharomyces cerevisiae*, una levadura fermentadora del tesgüino de los indios tarahumares. *Bol. Soc. Mex. Mic.* 7: 33-38.
- Lodder, J., 1970. *The yeasts, a taxonomic study*. North Holland Publishing Co., Amsterdam, 1385 pp.
- Pennington, C. W., 1963. *The Tarahumar of Mexico*. University of Utah Press, Salt Lake City, 267 pp.
- , 1969. *The Tepehuan of Chihuahua*. University of Utah Press, Salt Lake City, 413 pp.
- Taboada, J., T. Herrera y M. Ulloa, 1972. Prueba de la reducción de acetileno para la determinación de microorganismos fijadores de nitrógeno aislados del pozol. *Rev. lat-amer. Quím.* 2: 188-191.
- Ulloa, M., C. Salinas y T. Herrera, 1974. Estudio de *Bacillus megaterium* aislado del tesgüino de Chihuahua, México. *Rev. lat-amer. Microbiol.* 16: 209-211.
- Ulloa, M., 1974. Mycofloral succession in pozol from Tabasco, Mexico. *Bol. Soc. Mex. Mic.* 8: 17-48.
- Ulloa, M. y C. P. Kuntzman, 1975. Occurrence of *Candida parapsilosis*, *C. tropicalis*, and *Saccharomyces cerevisiae* in pozol from Tabasco, Mexico. *Bol. Soc. Mex. Mic.* 9: 7-12.

RESUMEN

Este trabajo trata de la identificación de dos especies de levaduras del género *Saccharomyces*, *S. cerevisiae* y *S. uvarum*, aisladas de dos diferentes muestras de tesgüino (bebida alcohólica elaborada por fermentación de granos de maíz) del estado de Jalisco, México. Se indica la constancia en el tesgüino de la primera especie mencionada, y la segunda especie que se anota es registrada por primera vez en esta bebida fermentada. Se señala el fenómeno de la fijación de nitrógeno, evidenciado por la prueba de reducción de acetileno, en una muestra de tesgüino procedente de Guadalajara. En la muestra procedente de La Barca, no fue posible registrar reducción de acetileno.

SUMMARY

This paper deals with the identification of two species of *Saccharomyces*, *S. cerevisiae* and *S. uvarum*, isolated from two different samples of tesgüino (alcoholic beverage produced by fermentation of maize kernels) from the State

of Jalisco, Mexico. The constancy in tesgüino of the first mentioned species is commented, and the second species is reported for the first time in this fermented beverage. Nitrogen fixation, as shown by the acetylene reduction test, was registered in a sample of tesgüino from Guadalajara. In the other sample studied, from La Barca, the acetylene reduction test was negative.