

ESTUDIO DE CINCO ESPECIES DE LEVADURAS DEL PULQUE, Y COMPARACIÓN DE LA MICROBIOTA DE ESTA BEBIDA CON LA DE OTRAS SEMEJANTES DEL MUNDO

PATRICIA LAPPE*
MIGUEL ULLOA*
TEÓFILO HERRERA*

RESUMEN

Se estudiaron 21 aislamientos de levaduras obtenidos de muestras de pulque (bebida alcohólica producida por fermentación de la savia de *Agave* spp.) de cinco localidades de México. De ellos, tres de Jalatlaco, Méx., dos de Toluca, Méx., tres de Tulancingo, Hgo., y dos de Morelia, Mich., fueron identificados como *Saccharomyces cerevisiae*; tres de Toluca, Méx., pertenecieron a *Pichia membranaefaciens*; uno de Huixquilucan, Méx., y uno de Tulancingo, Hgo., correspondieron a *Candida valida*; dos de Jalatlaco fueron *Kluyveromyces marxianus* var. *bulgaricus*; tres de Jalatlaco fueron *Pichia carsonii*, y uno de Tulancingo fue *Candida guilliermondii*. Las últimas tres especies son registradas por primera vez para el pulque. *S. cerevisiae* resultó ser la especie más constante (cuatro de las cinco localidades) y abundante (10 de los 21 aislamientos), lo que indica su importancia en la fermentación alcohólica de la bebida; el papel que tengan las otras especies de levaduras sólo se podrá determinar hasta que se realicen estudios sobre la sucesión microbiana y los cambios bioquímicos que se producen durante dicha sucesión en la fermentación, como se ha hecho en otras bebidas fermentadas indígenas de México (pozol y tesgüino). La microbiota del pulque es semejante a la de los vinos de palma africanos y asiáticos.

Palabras clave: levaduras, pulque, bebidas fermentadas, México.

ABSTRACT

Twenty-one yeast isolates from pulque samples (alcoholic fermented sap of *Agava* spp.) obtained from five localities of Mexico were studied. Of them, three from Jalatlaco, Mex., two from Toluca, Mex., three from Tulancingo, Hgo., and two from Morelia, Mich., were identified as *Saccharomyces cerevisiae*; three from Toluca, Mex., as *Pichia membranaefaciens*; one from Huixquilucan, Mex, and one from Tulancingo, as *Candida valida*; two from Jalatlaco as *Kluyveromyces marxianus* var. *bulgaricus*; three from Jalatlaco as *Pichia carsonii*, and one from Tulancingo as *Candida guilliermondii*. The last three species are herein recorded for the first time for pulque. *S. cerevisiae* was the most constant (four out of five localities) and abundant (10 out of 21 isolates), which indicates its importance in the alcoholic fermentation of the beverage; the role of other yeast species can only be determined until studies on microbial succession and biochemical changes occurring during such a succession in the fermentation are carried out, as has been done for other fermented beverages indigenous to Mexico (pozol and tesgüino). The microbiota of pulque is similar to that of African and Asiatic palm wines.

Key words: yeasts, pulque, fermented beverages, Mexico.

* Laboratorio de Micología, Departamento de Botánica, Instituto de Biología, UNAM, Apartado Postal 70-233, Del. Coyoacán, 04510 México, D.F.

INTRODUCCIÓN

En trabajos previos se han indicado antecedentes históricos y diversos aspectos étnicos, socioeconómicos, microbiológicos, médicos, bioquímicos y biotecnológicos sobre el pulque, que es la bebida fermentada tradicional de mayor consumo en México (Morton Gómez, 1925; Ruiz Oronoz, 1936; Herrera, 1953; Herrera *et al.*, 1972, 1977; Goncalves de Lima, 1978; Sánchez-Marroquín, 1977; Ulloa y Herrera, 1976-1982; Guerrero Guerrero, 1985; Godoy Patiño, 1987; Ulloa *et al.*, 1987). No obstante que hay numerosos trabajos acerca de esta bebida todavía no se conoce bien su compleja microbiota, la que puede variar según los procedimientos y el lugar de elaboración. Además, como lo indicaron Ulloa y Herrera (1976-1982), la identidad de algunas especies de levaduras del pulque descritas por otros autores (Ruiz-Oronoz, 1953; Sánchez-Marroquín, 1962) debería ser revisada de acuerdo con la metodología moderna para el estudio taxonómico de estos microorganismos, porque ha habido cambios en las delimitaciones y aceptación de las especies originalmente registradas para el pulque. Así, Ruiz-Oronoz (1953) describió como especies nuevas a *Saccharomyces carbajalii*, *Pichia barraganii*, *Torulopsis hydromellitis*, *T. aquamellis* y *Rhodotorula incarnata*. Posteriormente las tres primeras fueron consideradas como *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia membranaefaciens* y *Candida parapsilosis* (Sánchez-Marroquín, 1962); las dos últimas no fueron revisadas porque no se conservaron en ninguna colección de cultivos, aunque en el caso de que *T. aquamellis* pudiera ser estudiada nuevamente, lo más probable es que sería incluida en el género *Candida*, puesto que en la actualidad el género *Torulopsis* es considerado como sinónimo de *Candida* (Meyer *et al.*, 1984). Por ello se realizó la presente investigación, con el objeto de contribuir al conocimiento más detallado de las levaduras del pulque, y saber qué especies son más constantes en el producto fermentado, procedente de varias localidades de México.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los 21 aislamientos de las levaduras estudiadas se obtuvieron de muestras de pulque (de tiempo de fermentación y proceso de elaboración no precisados) procedentes de las cinco localidades que se indican en la tabla 1, utilizando placas de medio V8 agar (JV8 agar; jugo de 8 verduras, marca Campbell, 180 ml; carbonato de calcio, 2g; agar, 20g; agua destilada, 1 000 ml), las cuales fueron inoculadas con asa microbiológica siguiendo el método de estrías múltiples. De las colonias puras se hicieron resiembras a todos los medios de cultivo líquidos y sólidos necesarios para determinar las características de dichos aislamientos.

La identificación de las especies se logró siguiendo los métodos de estudio de van der Walt (1970) y de van der Walt y Yarrow (1984), las claves de Lodder (1970), de Barnett *et al.* (1979) y de Kreger-van Rij (1984), y las descripciones de Kurtzman (1984), Meyer *et al.* (1984), van der Walt y Johansen (1984), y Yarrow (1984).

TABLA 1
 PROCEDENCIA DE LAS MUESTRAS DE PULQUE ESTUDIADAS
 Y ESPECIES DE LEVADURAS IDENTIFICADAS

Localidades	Especies de levaduras y número de aislamientos					
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Pichia membranaefaciens</i>	<i>Candida valida</i>	<i>Kluyveromyces marxianus</i> var. <i>bulgaricus</i>	<i>Pichia carsonii</i>	<i>Candida guilliermondii</i>
Jalatlaco, Méx.	3			2	3	
Huixquilucan, Méx.			1			
Toluca, Méx.	2	3				
Morelia, Mich.	3					
Tulancingo, Hgo.	2		1			1
	10	3	2	2	3	1 Total 21

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se indican tanto la procedencia como el número de aislamientos que correspondieron a cada una de las 5 especies identificadas, y que fueron las siguientes:

Saccharomyces cerevisiae Meyen ex Hansen (Figs. 1-4). Es una especie de muy amplia distribución, que ya había sido registrada para el pulque, además de otras bebidas fermentadas indígenas de México, como tuba, tesgüino, colonche, pozol y tepache, así como los tibicos, con los que frecuentemente se prepara el tepache y el vinagre de tibicos (Ulloa *et al.*, 1987). A nivel mundial, ha sido aislada de muchas otras fuentes, como vinos, cervezas de cebada, diversos mostos, sidras, quesos, exudado de encino, jugos de frutas, mieles, diversos frutos y hojas, insectos, suelos, aceitunas y otras salmueras, refrescos gaseosos, piel humana sana y ulcerada, cavidad oral y esputo, y otros muchos sustratos, incluyendo alimentos y bebidas fermentados indígenas de África y Asia, como cerveza *kaffir* o Bantú, *kefyr*, *ogi*, *punjabí*, *waries*, *jalebies*, *takju* y *naruk* (van der Walt, 1956; Banigo, 1980; Kreger-van Rij, 1984; Batra, 1986; Mheen y Kwon, 1986).

Pichia membranaefaciens Hansen (Figs. 5-7). Esta especie, y su estado asexual, *Candida valida* (Leberle) van Uden et Buckley (Figs. 8-9), también ya habían sido halladas en el pulque y en otras bebidas fermentadas que se consumen en México, como tuba, tesgüino, pozol, colonche y tepache, incluyendo el tepache de tibicos (Ulloa *et al.*, 1987). Ha sido registrada en mosto de uva, vinos, suelos de viñedos, cervezas, malta de sorgo para hacer brandy, heces, desechos fermentados de maíz para alimentar ganado, y otros sustratos, que comprenden salmueras y bebidas alcohólicas tradicionales africanas, como vino de palma y cerveza *oyokpo* (Rose y Harrison, 1969, 1970; Nyako, 1977; Nkanga, 1981; Kreger-van Rij, 1984).

Kluyveromyces marxianus (Hansen) van der Walt var. *bulgaricus* (Santa María) Johansen et van der Walt (Figs. 10-12). En este trabajo, se registra por primera vez para el pulque. Ha sido encontrada en yogurt, cerveza de sorgo, queso stracchino y espalda de una vaca (Kreger-van Rij, 1984).

Pichia carsonii Phaff et Knapp (Figs. 13-16). Se registra aquí por primera vez para el pulque. Inicialmente, los aislamientos de esta levadura fueron identificados por los autores de este trabajo como *Pichia vini* Phaff y *P. vini* (Zimmermann) Phaff var. *melibiosi* Santa María; no obstante, ambas son ahora consideradas como sinónimos de *P. carsonii*, según lo indica Kurtzman (1984).

Anteriormente, había sido aislada de vino descompuesto, suelo y *Quercus kelloggii* (Kreger-van Rij, 1984).

Candida guilliermondii (Castellani) Langeron et Guerra (Figs. 17-19). Debido a que esta especie es heterotálica y a que sólo se obtuvo un aislamiento del pulque, no se desarrolló la fase sexual de esta especie, que corresponde a *Pichia guilliermondii* Wickerham. *Candida guilliermondii*, junto con *K. marxianus* var. *bulgaricus* y *P. carsonii*, corresponden a las tres especies de levaduras registradas por primera vez para el pulque. Es una especie patógena oportunista, que ha sido aislada de piel, úlceras, apéndice, pulmón, esputo, sangre, semen de toro, larvas de insectos Cossidae, inóculo iniciador para la elaboración del sake, y solución de tripsina (Kreger-van Rij, 1984). En México ha sido hallada en pozol (Ulloa, 1974) y en tesgüino (Lappe, 1988),

y en África en alimentos y bebidas fermentados autóctonos, como *injera*, cerveza *kaffir*, cerveza *pito* y cerveza *burukutu* (van der Walt, 1956; Stewart y Getachew, 1962; Ekundayo, 1969; Faparusi *et al.*, 1973).

Todas las especies de bacterias, levaduras y mohos que han sido hasta ahora aisladas del pulque se enlistan en la tabla 2, en la que también se hace una comparación de la microbiota de éste con la de otras bebidas fermentadas similares, obtenidas por fermentación de savia de plantas. Como se puede ver en dicha tabla, la microbiota del pulque es semejante a la de los vinos de palma de África y Asia, como el *emu* u *ogogoro* de Nigeria, el *nsafufuo* de Ghana y el *toddy* de la India y Pakistán, entre otros. El tipo de fermentación que se lleva a cabo en este tipo de bebidas es siempre láctica-alcohólica-acética, e involucra bacterias lácticas homo y heterofermentativas, levaduras y bacterias acéticas, así como *Zymomonas* y *Micrococcus*. *Leuconostoc* y *Lactobacillus* spp. son de los primeros microorganismos que habitan en la savia (de maguey en el caso del pulque, o de palma en el de las otras bebidas similares) y son las responsables de la producción de ácido láctico y dextranas, que provocan la acidez, turbidez y viscosidad características. *Saccharomyces cerevisiae* es la levadura que generalmente realiza la fermentación alcohólica, junto con la bacteria *Zymomonas mobilis*. Los otros microorganismos que también se desarrollan en la savia, como las bacterias acéticas y algunos mohos, son variables en tipo y número pero indudablemente contribuyen a dar al producto algunas de sus características, como aroma y sabor (Sánchez-Marroquín, 1977; Okafor, 1977). En la tabla 2 se dan más referencias de trabajos acerca de la microbiología de los vinos de palma africanos, asiáticos y americanos, trabajos a los que se puede remitir el lector interesado en los cambios no sólo microbianos, sino también bioquímicos y nutricionales que se suceden durante la fermentación, así como otros aspectos relacionados con la elaboración de estas bebidas (áreas de producción, modo de consumo e importancia en la dieta, métodos de preparación, propiedades especiales, cambios nutricionales, y otros aspectos). Para el caso del pulque, Sánchez-Marroquín (1977) y Ulloa *et al.* (1987) registran información concerniente a todos estos aspectos, por lo que no se repetirá aquí, y solamente cabe mencionar que, además de la importancia que el pulque tiene para los consumidores habituales, el estudio de los microorganismos aislados de éste puede representar nuevas aplicaciones en la obtención de diversos productos industriales de relevancia económica y médica, como proteínas, aminoácidos, alcoholes, ácidos orgánicos, vitaminas y dextranas, entre otros. Un ejemplo de lo anterior lo constituyen los trabajos sobre la utilización de levaduras aisladas del pulque, como *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia membranaefaciens* y *Candida parapsilosis*, cultivadas en sustratos orgánicos de desecho, procedentes de la industria azucarera, para obtener proteína unicelular que pueda ser incorporada en nuevos alimentos de animales domésticos (Lemoine Mendoza y Rodríguez, 1976; Cruz y Ochoa, 1978; Enríquez Freire *et al.*, 1985).

Los resultados obtenidos en el presente estudio indican que aunque algunas especies de levaduras son constantes en el proceso de fermentación del pulque, como *S. cerevisiae*, *P. membranaefaciens* y *C. valida*, pueden presentarse otras debido a las variaciones inherentes a la procedencia, tipo de sustrato y manejo que de él hagan los elaboradores de la bebida, además de las condiciones ambientales y otros factores. Por ello, sería recomendable realizar estudios sobre la sucesión mi-

crobiana que ocurre desde la materia prima hasta el producto final, y correlacionar dicha sucesión con los cambios bioquímicos y nutricionales, con objeto de conocer mejor la proporción relativa de los componentes de la microbiota esencial del pulque y las posibles aplicaciones que de ella puedan derivar, como ha sido investigado en otras bebidas fermentadas autóctonas de México (Ulloa, 1974; Litzinger, 1983; Ramírez, 1987; Lappe, 1988).

AGRADECIMIENTOS

Se reconoce la valiosa ayuda de C. P. Kurtzman, del Northern Regional Research Laboratory, de Peoria, Illinois, en la confirmación de la identificación de *Pichia carsonii*. También se agradece a C. Salinas su colaboración en la preparación de medios de cultivo y en la realización de algunas pruebas de asimilación y fermentación, en la etapa inicial de este trabajo.

LITERATURA CITADA

- AHMAD, M., A. RAZZAQUE Y K. U. AHMAD. 1954. Studies on toddy yeast. *Mycologia* 46: 708-720.
- BANIGO, E. O. I. 1980. Ogi fermentation. Vllth International Fermentation Symposium, London, Canadá.
- BARNETT, J. A., R. W. PAYNE Y D. YARROW. 1979. *A Guide to Identifying Yeasts*. Cambridge University Press, Cambridge, Inglaterra, 315 pp.
- BASSIR, C. 1962. Observations on the fermentation of palm wine. *W. African J. Biol. Appl. Chem.* 6: 20-25.
- BASSIR, C. 1968. Some Nigerian wines. *W. African J. Biol. Appl. Chem.* 10: 42-45.
- BATRA, L. R. 1986. Microbiology of some fermented cereals and grain legumes of India and vicinity. En: C. W. Hesseltine y H. L. Wang (eds.), *Indigenous Fermented Food of Non-Western Origin*. Mycologia Memoir No. 11. J. Cramer, Berlín, pp. 85-93.
- BATRA, L. Y P. MILLNER. 1974. Some Asian fermented foods and beverages and associated fungi. *Mycologia* 66: 942-950.
- CRUZ, N. Y A. OCHOA. 1978. *Obtención de cultivos concentrados de dos levaduras (Pichia barraganii y Torulopsis hydromellitis) aislados del aguamiel por agitación y aireación*. Tesis de licenciatura, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, 120 pp.
- DJIEN, K. S. 1986. Indonesian fermented foods not based on soybeans. En: C. W. Hesseltine y H. L. Wang (eds.), *Indigenous Fermented Food of Non-Western Origin*. Mycologia Memoir No. 11, J. Cramer, Berlín, pp. 67-84.
- EKUNDAYO, J. A. 1969. The production of *pito*, a Nigerian fermented beverage. *J. Food Technol.* 4: 217-225.
- ENRIQUEZ FREIRE, J. M., M. DE LA L. GONZÁLEZ Y L. E. URBINA. 1985. *Desarrollo de levaduras del aguamiel y pulque en diferentes sustratos orgánicos de desecho*. Tesis de licenciatura, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, 217 pp.
- FAPARUSI, S. I. 1977. Nigerian palm-wine-*emu*. Symposium on Indigenous Fermented Foods, Bangkok.
- FAPARUSI, S. I. Y O. BASSIR. 1971. Microflora of fermenting palm sap. *J. Food Sci. Technol.* (Mysore) 8: 206.
- FAPARUSI, S. I. Y O. BASSIR. 1972a. Factors affecting the quality of palm-wine. 1. Period of tapping of a palm tree. *W. African J. Biol. Appl. Chem.* 15: 17-22.
- FAPARUSI, S. I. Y O. BASSIR. 1972b. Factors affecting the quality of palm-wine. 2. Period of storage. *W. African J. Biol. Appl. Chem.* 15: 24-28.
- FAPARUSI, S. I., M. O. OLORUMBOBA Y J. A. EKUNDAYO. 1973. The microbiology of *burukutu* beer. *Z. Allg. Mikrobiol.* 13: 563-568.
- GODOY PATIÑO, A. 1987. *Recopilación bibliográfica sobre los aspectos histórico, etnobiológico, microbio-*

- lógico y químico de bebidas alcohólicas no destiladas, indígenas de México.* Tesis de licenciatura, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, 106 pp.
- GUILLIERMOND, A. 1914. Monographie des levures de l'Afrique occidentale. *Ann. Sci. Nat. Bot.* 9(19): 1-32.
- GONCALVES DE LIMA, O. 1978. *El maguey y el pulque en los códices mexicanos.* Fondo de Cultura Económica, México, 278 pp.
- GUERRERO-GUERRERO, R. 1985. *El pulque*, 2a. ed. Joaquín Mortíz, Instituto Nacional de Antropología e Historia, México, 299 pp.
- HERRERA, T. 1953. Trabajos que se han hecho en México sobre bacterias de líquidos fermentados (con especial referencia al pulque). Memoria del Congreso Científico Mexicano. IV Centenario de la Universidad de México (1551-1951), VI, Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México, pp. 36-53.
- HERRERA, T., J. TABOADA y M. ULLOA. 1972. Fijación de nitrógeno en el tesgüino y el pulque. *Anales Inst. Biol. Univ. Nac. Autón. México, Ser. Biol. Exp.* 43 (1): 77-78.
- HERRERA, T. y M. ULLOA. 1975. Reconsideraciones sobre dos trabajos anteriores para la identificación de *Kluyveromyces fragilis* y *Candida guilliermondii* en el pozol, y de *Kloeckera apiculata* en el pulque. *Bol. Soc. Mex. Mic.* 9: 13-15.
- HERRERA, T., M. ULLOA y T. TABOADA. 1977. Microbiological studies on pulque. Symposium on Indigenous Fermented Foods, Bangkok.
- HERRERA, T. y M. ULLOA. 1979. Estudio de *Kloeckera apiculata* y *Saccharomyces cerevisiae*, levaduras aisladas de la tuba de Colima, México. *Bol. Soc. Mex. Mic.* 13: 187-194.
- KREGER-VAN RIJ, N. J. W. 1984. Keys. En: N. J. W. Kreger-van Rij (ed.), *The Yeasts. A Taxonomic Study*, 3a. ed., Elsevier, Amsterdam, pp. 967-1005.
- KURTZMAN, C. P., 1984. Genus 21. *Pichia* Hansen. En: N. J. W. Kreger-van Rij (ed.), *The Yeasts. A Taxonomic Study*, 3a. ed., Elsevier, Amsterdam, pp. 295-378.
- LAPPE, P. 1988. *Estudios étnicos, microbianos y químicos del tesgüino tarahumara.* Tesis doctoral, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, 165 pp.
- LEMOINE MENDOZA, B. e I. RODRIGUEZ. 1976. *Evaluación química y biológica de levaduras del pulque como recurso proteico en alimentación.* Tesis de licenciatura, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, 63 pp.
- LITZINGER, W. 1983. *The Ethnobiology of Alcoholic Beverage Production by Lacandon and other Aboriginal Mesoamerican Peoples.* Tesis doctoral, Universidad de Boulder, Colorado, 178 pp.
- LODDER, J. 1970. Introduction to the chapters IV, V, VI and VII, and key to the genera. En: J. Lodder (ed.), *The Yeasts. A Taxonomic Study*, 2a. ed., North Holland, Amsterdam, pp. 114-120.
- MERICAN, Z. 1977. Malaysian coconut palm toddy. Symposium on Indigenous Fermented Foods, Bangkok.
- MEYER, S. A., D. G. AHEARN y D. YARROW. 1984. *Candida* Berkhout. En: N. J. W. Kreger-van Rij (ed.), *The Yeasts. A Taxonomic Study*, 3a. ed., Elsevier, Amsterdam, pp. 585-844.
- MHEEN, T. I. y T. W. KWON. 1986. Traditional fermented food products in Korea. En: C. W. Hesseltine y H. L. Wang (eds.), *Indigenous Fermented Food of Non-Western Origin.* Mycologia Memoir No. 11, J. Cramer, Berlin, pp. 109-111.
- MORTON-GÓMEZ, M. 1925. *Aprovechamiento industrial del maguey.* Tesis de licenciatura, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional Autónoma de México, 120 pp.
- NKANGA, E. J. 1981. The microbiology of *oyokpo*, a traditionally fermented beer in Bandel state of Nigeria. *Acta Bacteriol.* 1: 41-47.
- NYAKO, K. O. 1977. Palm-wine, an alcoholic beverage of Ghana. Symposium on Indigenous Fermented Foods, Bangkok.
- OKAFOR, N. 1972a. Palm-wine yeasts from part of Nigeria. *J. Sci. Food Agric.* 23: 1399-1407.
- OKAFOR, N. 1972b. The source of microorganisms in palm-wine. Symposium Proceedings, Nigerian Society for Microbiology 1: 102-106.
- OKAFOR, N. 1975. Microbiology of Nigerian palm-wine, with particular reference to bacteria. *J. Appl. Bacteriol.* 38: 1-7.
- OKAFOR, N. 1977. Palm-wine. Symposium on Indigenous Fermented Foods, Bangkok.
- OKAFOR, N. 1978. Microbiology and biochemistry of oil-palm-wine. *Adv. Appl. Microbiol.* 24: 237-256.
- RAMÍREZ, C. F. 1987. *Biochemical Studies on a Mexican Fermented Corn Food-Pozol.* Tesis doctoral, Universidad de Cornell. Ithaca, 176 pp.

- ROSE, A. H. y J. S. HARRISON (eds.). 1969. *The Yeasts*, Vol. 1, *The Biology of Yeasts*, Academic Press, Londres, 508 pp.
- ROSE, A. H. y J. S. HARRISON (eds.). 1970. *The Yeasts*, Vol. 3. *Yeast Technology*, Academic Press, Londres, 570 pp.
- RUIZ ORONÓZ, M. 1936. Nota acerca de la microbiología del pulque. *Anales. Inst. Biol. Univ. Nac. Autón. México* 7: 251-258.
- SAITO, K. y Y. OTANI. 1936. Über die aus Schleimfluss des Baumstammes isolierten Gärungspilze. *Jap. J. Bot.* 8: 23.
- SÁNCHEZ MARROQUÍN, A. 1962. Aspectos metabólicos de las levaduras del pulque. *Revista Soc. Mex. Hist. Nat.* 23: 1-20.
- SÁNCHEZ MARROQUÍN, A. 1977. Mexican pulque, a fermented drink from *Agave* juice. Symposium on Indigenous Fermented Foods, Bangkok.
- STEWART, B. R. y A. GETACHEW. 1962. Investigation on the nature of *injera*. *Econ. Bot.* 16: 127-130.
- SWINGS, J. y J. DELEY. 1977. The biology of *Zymomonas*. *Bact. Rev.* 41: 1-46.
- ULLOA, M. 1974. Mycofloral succession in pozol from Tabasco, Mexico. *Bol. Soc. Mex. Mic.* 8: 17-48.
- ULLOA, M. y T. HERRERA. 1976-1982. Estado actual del conocimiento sobre la microbiología de las bebidas fermentadas indígenas de México: pozol, tesgüino, pulque, colonche y tepache. *Anales Inst. Biol. Univ. Nac. Autón. México, Ser. Bot.* 47-53: 145-163.
- ULLOA, M., T. HERRERA y P. LAPPE. 1987. *Fermentaciones tradicionales indígenas de México*. Instituto Nacional Indigenista, Serie de Investigaciones Sociales, No. 16, 77 pp.
- VAN DER WALT, J. P. 1956. Kaffir corn malting and brewing studies. II. Studies on the microbiology of kaffir beer. *J. Sci. Food Agric.* 7: 105-113.
- VAN DER WALT, J. P. 1970. Criteria and methods used in classification. En: J. Lodder (ed.), *The Yeasts. A Taxonomic Study*, 2a. ed., North Holland, Amsterdam, pp. 34-113.
- VAN DER WALT, J. P. y E. JOHANNSEN. 1984. *Kluyveromyces* van der Walt emend. van der Walt. En: N. J. W. Kreger-van Rij (ed.), *The Yeasts. A Taxonomic Study*, 3a. ed., Elsevier, Amsterdam, pp. 224-251.
- VAN DER WALT, J. P. y D. YARROW. 1984. Methods for the isolation, maintenance, classification and identification of yeasts. En: N. J. W. Kreger-van Rij (ed.), *The Yeasts. A Taxonomic Study*, 3a. ed., Elsevier, Amsterdam, pp. 45-104.
- VAN PEE, W. y J. G. SWINGS. 1971. Chemical and microbiological studies on Congolese palm wines (*Elaeis guineensis*). *E. African Agric. Forest J.* 36: 311-320.
- YARROW, D. 1984. *Saccharomyces* Meyen ex Reess. En: N. J. W. Kreger van Rij (ed.), *The Yeasts. A Taxonomic Study*, 3a. ed. Elsevier, Amsterdam, pp. 379-395.

TABLA 2
 COMPARACIÓN DE LA MICROBIOTA DEL PULQUE CON LA DE OTRAS BEBIDAS FERMENTADAS SIMILARES,
 OBTENIDAS POR FERMENTACIÓN DE SAVIA DE PLANTAS^a

Bebida	País o región	Sustrato	Microorganismos	Referencias
Pulque	México	Savia de los magueyes <i>Agave atrovirens</i> Karw. <i>A. americana</i> L. <i>A. ferox</i> Koch <i>A. mapisaga</i> Trel. <i>A. salmiana</i> Otto ex Salm.	Bacterias <i>Acetobacter aceti</i> (Pas.) Beijerinck <i>Lactobacillus</i> spp. <i>Lactobacillus buchneri</i> (Henn.) Bergey <i>et al.</i> <i>Lactobacillus delbrueckii</i> (Leich.) Beij. <i>Leuconostoc dextranicum</i> (Beij.) Hucker <i>et Pederson</i> <i>Leuconostoc mesenteroides</i> (Tsenk.) <i>van Tieghem</i> <i>Micrococcus luteus</i> (Schroeder) Cohn <i>Micrococcus roseus</i> Fluegge <i>Sarcina flava</i> de Bary <i>Streptococcus</i> spp. <i>Zymomonas mobilis</i> (Lind.) Kluyver <i>et van Niel</i>	Morton Gómez, 1925 Ruiz-Oronoz, 1936 Herrera, 1953 Sánchez-Marroquín, 1962 Ulloa y Herrera, 1976-1982 Ulloa <i>et al.</i> , 1987
			Levaduras <i>Candida</i> spp. <i>Candida guilliermondii</i> (Cast.) Lan. <i>et Guerra</i> ^b	

Bebida	País o región	Sustrato	Microorganismos	Referencias
			<i>Candida parapsilosis</i> (Ash.) Lan. et Talice	
			<i>Candida valida</i> (Leb.) van Uden et Buckley	
			<i>Kloeckera apiculata</i> (Reess emend. Kloecker) Janke	
			<i>Kluyveromyces marxianus</i> var. <i>bulgaricus</i> (Santa María) Johannsen et van der Walt ^b	
			<i>Pichia</i> spp.	
			<i>Pichia carsonii</i> Phaff et Knapp ^b	
			<i>Pichia membranaefaciens</i> Hansen	
			<i>Rhodotorula</i> spp.	
			<i>Saccharomyces</i> spp.	
			<i>Saccharomyces cerevisiae</i> Meyen ex. Hansen	
			Mohos	
			<i>Mucor mucedo</i> (L.) Brefeld	
			<i>Aspergillus glaucus</i> Link	
			<i>Geotrichum candidum</i> Link ex. Leman	
			<i>Penicillium glaucum</i> Link	
			Levaduras	
		Savia de la palma de aceite		
		<i>Eleais guineensis</i> Jacq.		
			<i>Saccharomyces chevalieri</i> Guilliermond = <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Guilliermond, 1914
AFRICA				
Vino de palma	África occidental			

Bebida	País o región	Sustrato	Microorganismos	Referencias
Vino de palma	Diversas regiones de África	Savia de diferentes especies de palmas	Bacterias <i>Zymomonas mobilis</i>	Swings y Deley, 1977
<i>Nsɛɛfufuo</i>	Ghana	Savia de la palma de aceite, <i>E. guineensis</i> , y de las palmas <i>Borassus flabellifer</i> L. y <i>Raphia hookeri</i> Mann. et Wendl.	Bacterias <i>Lactobacillus plantarum</i> (Orla-Jensen) Bergey et al. <i>L. mesenteroides</i> <i>Micrococcus</i> spp.	Ahmad et al., 1954 Nyako, 1977
			Levaduras	
			<i>Candida edax</i> van der Walt et Nel <i>Candida krusei</i> (Cast.) Berkhout <i>Candida mycoderma</i> (Reess) Lodder et Kregler van Rij = <i>Candida valida</i> <i>Candida tropicalis</i> (Cast.) Berkhout <i>C. valida</i> <i>K. apiculata</i> <i>P. membranaefaciens</i> <i>S. cerevisiae</i> <i>S. chevalieri</i> = <i>S. cerevisiae</i> <i>Schizosaccharomyces pombe</i> Lindher	
			Mohos	
			<i>G. candidum</i>	

Bebida	País o región	Sustrato	Microorganismos	Referencias
Vino de palma <i>emu</i> u <i>ogogoro</i>	Nigeria	Savia de la palma de aceite <i>E. guineensis</i>	Bacterias <i>Acetobacter</i> spp. <i>Lactobacillus</i> spp. <i>L. plantarum</i> <i>Leuconostoc</i> spp. <i>L. mesenteroides</i> <i>Micrococcus</i> spp. <i>Serratia</i> spp. <i>Streptococcus</i> spp. <i>Zymomonas</i> spp.	Bassir, 1962, 1968 Faparusi y Bassir, 1971, 1972a, 1972b Okafor, 1972, 1975, 1978 Faparusi, 1977
			Levaduras	
			<i>Candida</i> spp.	
			<i>C. mycoderma</i> = <i>C. valida</i>	
			<i>Endomycopsis</i> sp.	
			<i>K. apiculata</i>	
			<i>Pichia</i> spp.	
			<i>Saccharomyces bayanus</i> Saccardo =	
			<i>S. cerevisiae</i>	
			<i>S. cerevisiae</i>	
			<i>S. chevalieri</i> = <i>S. cerevisiae</i>	
			<i>Saccharomyces florentinus</i> (Castelli ex	
			Kudriavzev) Lodder et Kreger-van	
			Rij = <i>Zygosaccharomyces floren-</i>	
			<i>tinus</i> Cast. ex Kudriavzev	
			<i>Saccharomyces mrakii</i> (Capriotti) van	
			der Walt = <i>Zygosaccharomyces</i>	
			<i>mrakii</i> Capriotti	

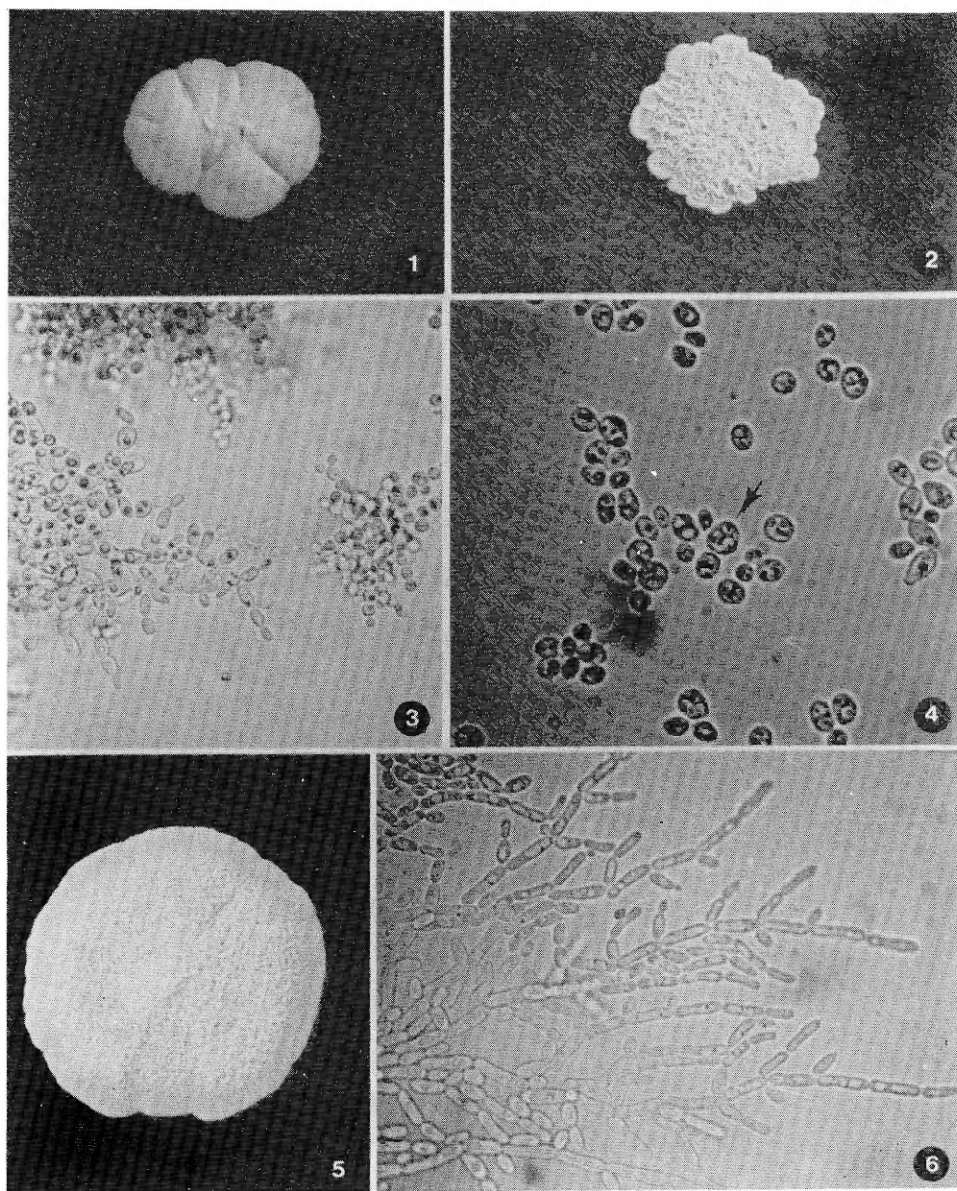
Bebida	País o región	Sustrato	Microorganismos	Referencias
			<p><i>Saccharomyces vafer</i> van der Walt = <i>Torulaspota delbruekii</i> (Lindner) Lind.</p> <p><i>Schizosaccharomyces pombe</i></p>	
			<p>Mohos</p> <p><i>Mucor</i> spp. <i>Rhizopus</i> spp. <i>Aspergillus</i> spp.</p>	
Vino de palma	Nigeria	Savia de la palma rafia, <i>Raphia</i> sp.	<p>Levaduras</p> <p><i>Candida</i> spp. <i>Saccharomyces rosei</i> (Guill.) Lodder et Kregler van Rij = <i>Torulaspota delbruekii</i></p>	Okafor, 1977
Vino de palma	República Democrática del Congo	Savia de la palma de aceite, <i>E. guineensis</i>	<p>Levaduras</p> <p><i>K. apiculata</i> <i>S. chevalieri</i> = <i>S. cerevisiae</i> <i>Saccharomyces ellipsoideus</i> Meyen ex Hansen = <i>S. cerevisiae</i> <i>Saccharomyces pastorianus</i> Hansen = <i>S. cerevisiae</i></p>	van Pee y Swings, 1971

Bebida	País o región	Sustrato	Microorganismos	Referencias
AMÉRICA				
<i>Tuba</i>	México	Savia del cocotero, <i>Cocos nucifera</i> L.	Levaduras <i>K. apiculata</i> <i>S. cerevisiae</i>	Herrera y Ulloa, 1979
ASIA				
<i>Sendi</i>	India	Savia de la palma <i>Phoenix sylvestris</i> (L.) Roxb.	Levaduras <i>S. cerevisiae</i>	Batra y Milner, 1974
<i>Toddy</i>	India y Pakistán	Savia de la palma <i>B. flabellifer</i>	Levaduras <i>S. chevalieri</i> = <i>S. cerevisiae</i> <i>Saccharomyces ludwigii</i> Hansen <i>Schizosacharomyces pombe</i>	Ahmad et al., 1954
<i>Tuak</i>	Indonesia	Savia de palma (especie no indicada)	Bacterias <i>Zymomonas</i> spp.	Djien, 1986
Vino de palma	Japón	Savia de palma (especie no indicada)	Levaduras <i>Endomycopsis fibuligera</i> (Lind.) Dekker var. <i>monospora</i> (Saito) Lodder et Kreger-van Rij = <i>Ambrosiozyma monospora</i> (Saito) van der Walt	Saito y Otani, 1936

Bebida	País o región	Sustrato	Microorganismos	Referencias
			<i>K. apiculata</i> <i>Pichia farinosa</i> (Lind.) Hansen <i>P. membranaefaciens</i> <i>Saccharomyces ludwigii</i> <i>Schizosaccharomyces pombe</i>	
<i>Toddy</i>	Malasia	Savia de palma (especie no indicada)	Levaduras <i>Saccharomyces</i> spp.	Merican, 1977

^a Los nombres científicos de las bacterias y levaduras del pulque enlistados en esta tabla corresponden a las denominaciones actualmente válidas. En los trabajos de Sánchez Marroquín (1962) y de Ulloa y Herrera (1976-1982) se incluyen tanto los nombres válidos como los registrados anteriormente y que han pasado a ser sinónimos de los primeros.

^b Especies consideradas en este trabajo como primeros registros para el pulque.



Figs. 1-4. *Saccharomyces cerevisiae*. 1-2. Colonias gigantes, X 2. 3. Seudomicelio, X 750. 4. Ascas con ascosporas (flecha), y células vegetativas, X 1 000. Figs. 5-6. *Pichia membranaefaciens*. 5. Colonia gigante, X 1.5. 6. Seudomicelio, X 750.

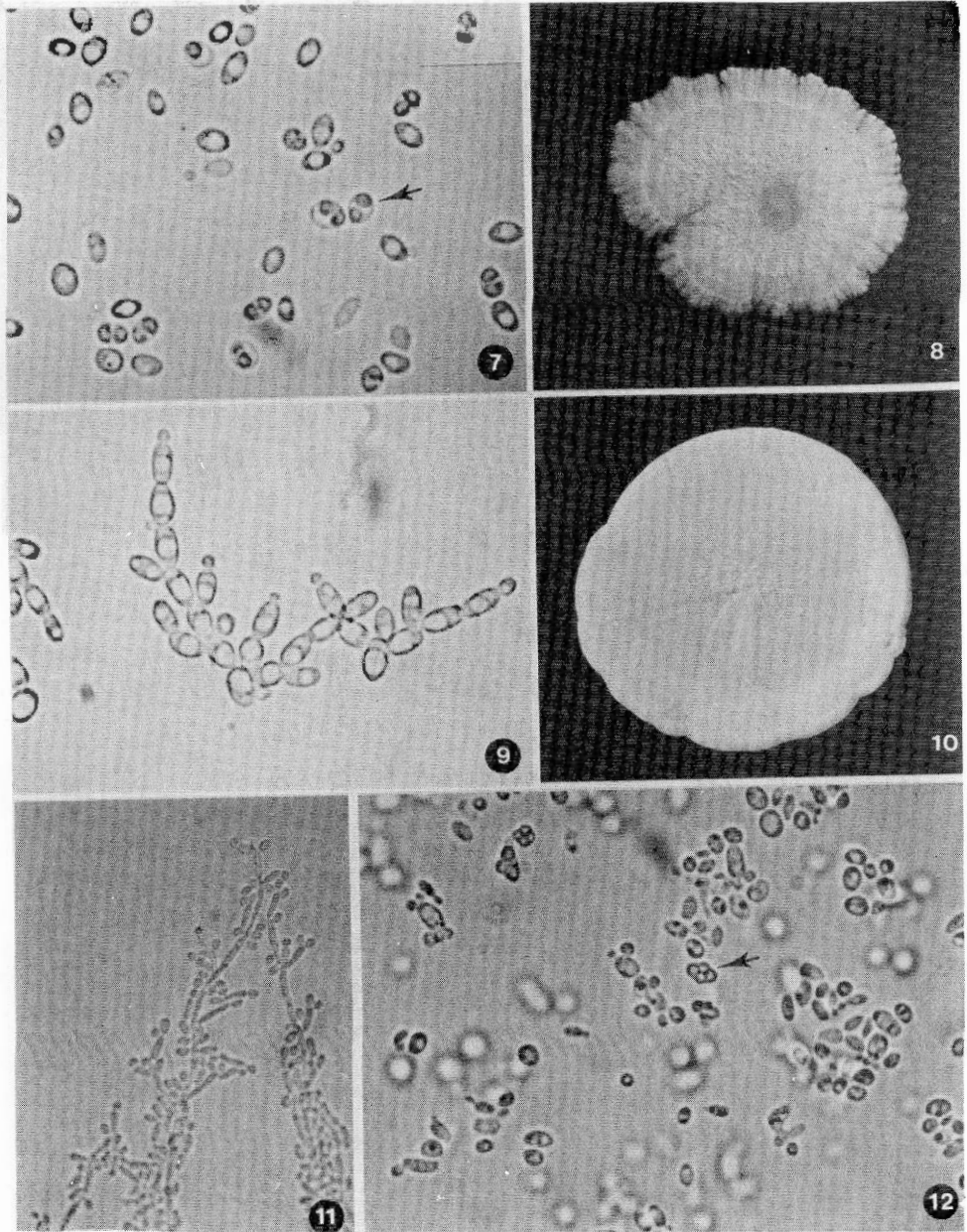
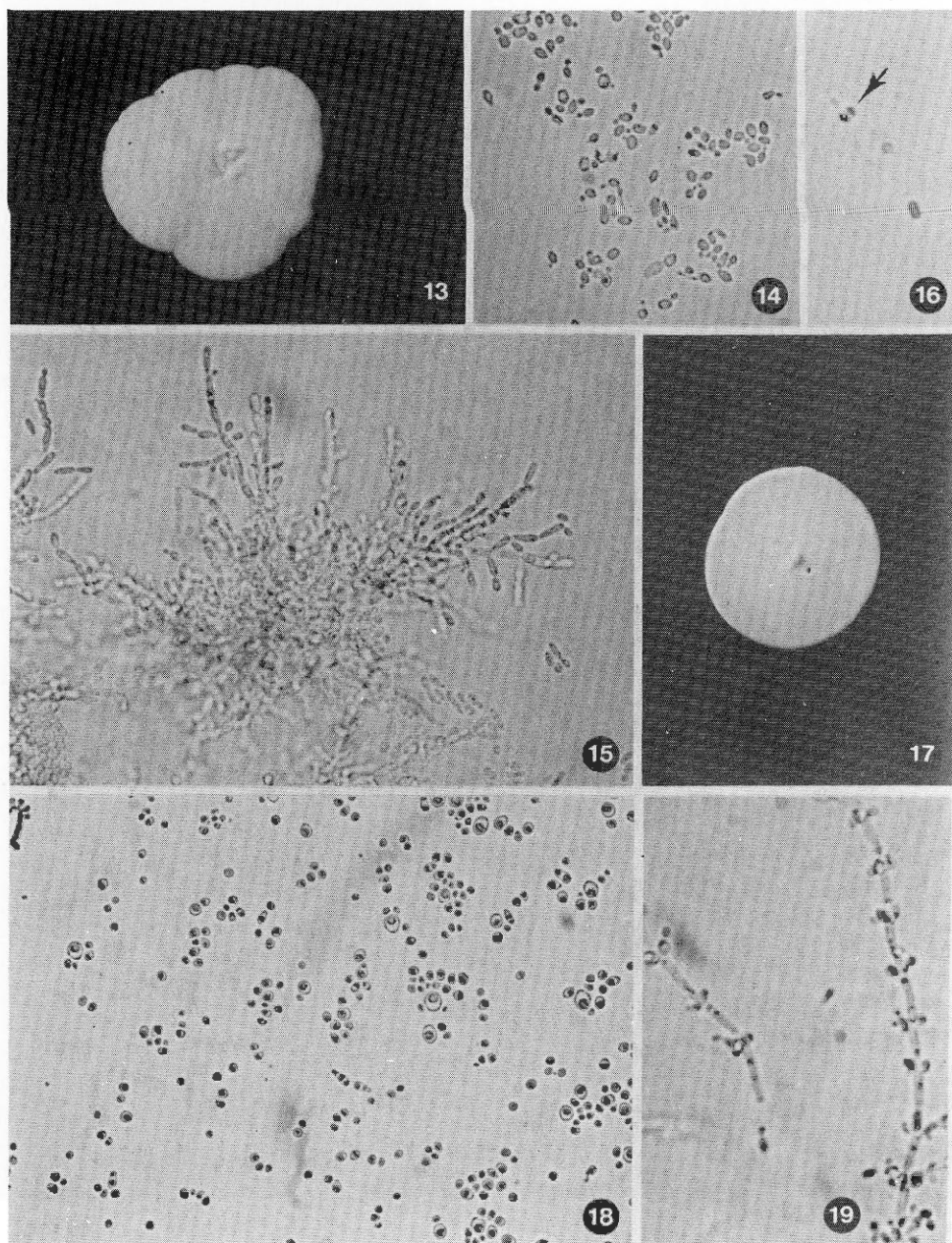


Fig. 7. Células vegetativas y ascas con ascosporas (flecha) de *Pichia membranaefaciens*, X 1 000. Figs. 8-9. *Candida valida*. 8. Colonia gigante, X 2. 9. Seudomicelio, X 1 000. Figs. 10-12. *Kluveromyces marxianus* var. *bulgaricus*. 10. Colonia gigante, X 1.5. 11. Seudomicelio, X 750. 12. Células vegetativas y ascas con ascosporas (flecha), X 1 000.



Figs. 13-16. *Pichia carsonii*. 13. Colonia gigante, X 2.5. 14. Células vegetativas, X 750. 15. Seudomicelio, X 750. 16. Asca con ascosporas (flecha), X 1 000, Figs. 17-19. *Candida guilliermondii*. 17. Colonia gigante, X 3. 18. Células vegetativas, X 1 000. 19. Seudomicelio, X 750.