

# CONTRIBUCION AL ESTUDIO BACTERIOLOGICO DEL AGUAMIEL Y DEL PULQUE

## II.—*Leuconostoc viscosum* (Carbajal 1901).

POR DANIEL NIETO ROARO  
Y MARGARITA MAECKE  
del Instituto de Biología

*Sin: Bacillus V. o viscosus Carbajal.*—Estudio sobre el pulque considerado principalmente sobre el punto de vista zimotécnico. *Boletín de la Soc. Agrícola. Méx. Tomo 25. No. 33. p. 541-655. Méx. 1901.*

*Streptococcus corrosus Lindner.*—*Mikroskopische und Biologische Betriebskontrolle in den Garungsgewerben p. 584-593. Berlin. 1930.*

I.—**Introducción.**—Este germen ha sido el foco principal al cual se han dirigido los estudios sobre el pulque. La importancia que presenta se debe a que influye probablemente en la producción de la goma y que aumenta la viscosidad del aguamiel, siendo esta viscosidad un factor que determina la “calidad superior” de esta bebida.

Fué vista ya en 1896 por Gaviño quien lo señala en su trabajo, más tarde en 1901 fué otra vez vista por Antonio J. Carbajal, lo que podemos comprobar por 2 dibujos que tomó de este germen y que corresponden en su morfología a la bacteria en estudio.

Más tarde Lindner volvió a verla y a estudiarla y la redescubrió bajo otro nombre, el de *St. corrosus* debido a que como él asienta la descripción de Carbajal es errónea. En la descripción de Lindner que es la última que se conoce, anota muy brevemente (pero correctamente) los caracteres culturales y morfológicos de este microorganismo.

Acercas de su aislamiento indica que fué muy difícil lograrlo sin hacer mención detallada del método que empleó, excepto que dice que lo aisló en un cultivo en gota suspendida, experiencia que nos-

otros hemos repetido sin lograr aislarlo. A continuación insertamos el párrafo respectivo:

“Der Streptococcus corrosus wächst sehr charakteristisch; man sieht lange Fäden mit Schleimwänden, die wie angefressen, angenagt erscheinen und an einen ganz alten verbrauchten Gummischlauch erinnern. Durch die so korrodierte” Schleimhülle hindurch sieht man nur selten den eigentlichen Kern, der einen Streptococcus darstellt, dessen einzelne Kettenglieder aber voneinander durch die verschleimten Zwischenwände auseinander gerückt sind. Züchtet man die Bakterien in einer Malzwürze, dann unterbleibt die Schleimbildung und die Bakterie wächst in einer reinen Streptococcenform. Die Reinkultur dieses Mikroben ist erst nach langen Versuchsreihen geglückt. Sie wächst aber unter geeigneten Bedingungen in sterilem Aguamiel ausserordentlich schnell und bildet wattebauschähnliche Gebilde, die allmählich zu Boden gehen und da ein kräftiges Sediment bilden. Die Bakterie bildet Milchsäure; der Bodensatz schneckt schleimig. Die Leichte Löslichkeit des Schleimes in alkalischen Lösungen lässt auf eine leichte Verdaulichkeit desselben schliessen. (Atlas, Bild 993-1000”.

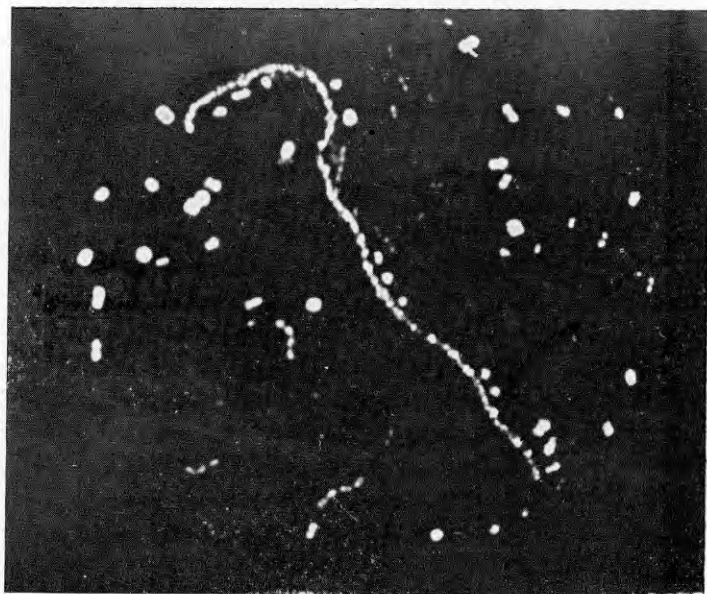


Fig. 1.—*Leuconostoc viscosum* del aguamiel en una preparación con tinta china de Burri.

Hacemos hincapié en que la descripción de Lindner de este germen es tan corta, que realmente es insuficiente para poder reconocerla.

Debemos aclarar también que Lindner cita a su vez un *Leuconostoc* (*Leuconostoc* Pulque) que según su fotografía (Lámina 68 fig. 988 de su "Atlas der Mikroskopischen Grundlagen der Gärungskunde") no corresponde al germen que estudiamos así como tampoco la descripción muy corta que da. (Nuestro germen no forma gas).

II.—**Aislamiento.**—Los intentos que hicimos para su aislamiento fueron numerosísimos y fracasaron aun cuando empleamos la técnica de la gota suspendida señalada por Lindner o el micromanipulador. Con pena observamos que ni siquiera lográbamos cultivos, en abundancia aunque fueran impuros. Esto nos hizo pensar que había una estrecha relación entre el pH del medio y el cultivo del germen. Observamos entonces el pH, el número de bacterias y el número de cadenas de *Leuconostoc* tomada cada hora durante doce horas; trabajo bioestadístico que publicaremos en un número siguiente. Pero para lo que ahora nos interesa debemos citar los siguientes datos:

Que el aguamiel recientemente secretado es ligeramente alcalino, pH 7.45, cosa extraordinaria tratándose de un jugo vegetal. Una hora después se nota que hay pocas bacterias y algunas cadenas de *Leuconostoc*. A medida que transcurren las horas el pH va bajando gradualmente y el número de *Leuconostoc* aumenta considerablemente, así como también las otras bacterias, llegando las cadenas a encontrarse más abundantemente en un pH de 5 a 6. Cuando más tarde el aguamiel se hace muy ácido el *Leuconostoc* desaparece por completo.

De esto nos guiamos para hacer medios con un pH apropiado para su desarrollo. Tratamos de aislarlo a partir de aguamiel muy fresca que tiene muy pocas bacterias y que es como aconseja Lindner que se haga, pero vimos que era mejor sembrar los grandes copos que como a las 6 horas empiezan a flotar en el aguamiel. Estos copos son cantidades enormes de *Leuconostoc*. Sin embargo, no obtuvimos cultivos puros. Esto se logró por medio de un sencillo artificio. Lindner indicó que cuando crecía en mosto de cerveza perdía su vaina. Como la vaina era precisamente la que impedía el aislamiento, pues a ella se adhieren las otras bacterias, lo cultivamos en mosto, luego lo pasamos a mosto gelatinizado y por el sencillo procedimiento de las estrías logramos "limpiar" los cultivos y obtener las cepas puras que pasándolas a medio líquido y apropiado vuelven a dar su vaina

característica. En la figura 1 que es una preparación de aguamiel con tinta china de Burri vemos al *Leuconostoc* con las bacterias adheridas. En la figura 2 vemos el aspecto microscópico de un copo y en la figura 3 el mismo teñido con fucsina.

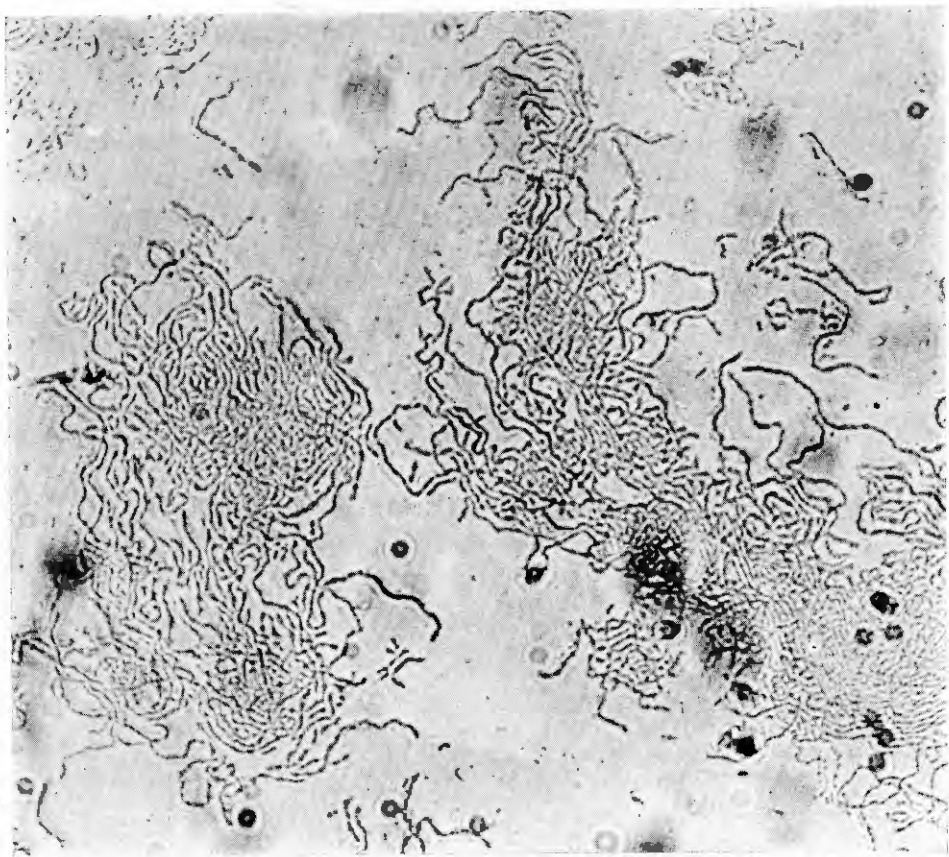


Fig. 2.—Aspecto microscópico de los copos que flotan en el aguamiel como a las 6 horas después de haber sido secretado; copos formados principalmente por *Leuconostoc viscosum*.

### III.—Morfología.

#### En vivo:

Forma: En aguamiel, en infusión de zanahoria, y en infusión de levadura es un estreptococo que forma largos filamentos sinuosos que se entrelazan. Estos filamentos a veces forman ángulos agudos, otras veces son simplemente ondulados. Están constituidos por diploco-

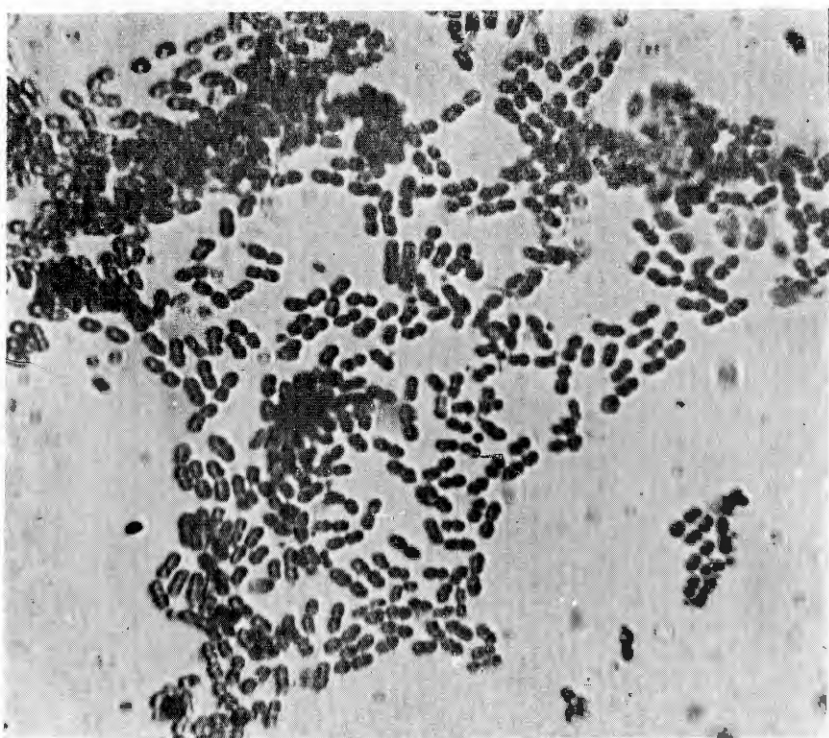


Fig. 3.—Preparación teñida de los copos de *Leuconostoc viscosum*.

cos algo alargados (Fig. 7). Están provistos de una vaina de aspecto corroído, que no es continua sino que envuelve únicamente a un diplococo. (Figs. 4 a 6).

En infusión de jitomate y mosto forma cadenas largas, sin vaina, constituidas por diplococos poco alargados casi esféricos (Figs. 8, 9, y 10).

En caldo glucosa, levulosa y sacarosa las cadenas no son tan largas y están rodeadas de vaina. En caldo simple no hay formación de vaina. Los elementos son ligeramente ovalados.

En los medios sólidos los caracteres microscópicos son los mismos que en el medio líquido correspondiente, únicamente se nota que las cadenas no son tan largas.

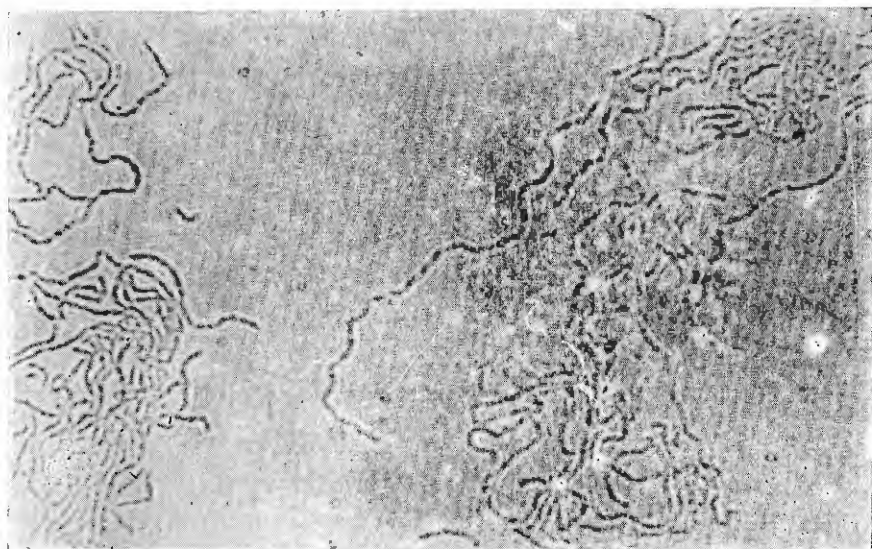


Fig. 4.—Microfotografía de un cultivo de 24 horas en infusión de zanahoria sin tinción, 200 x aumento.

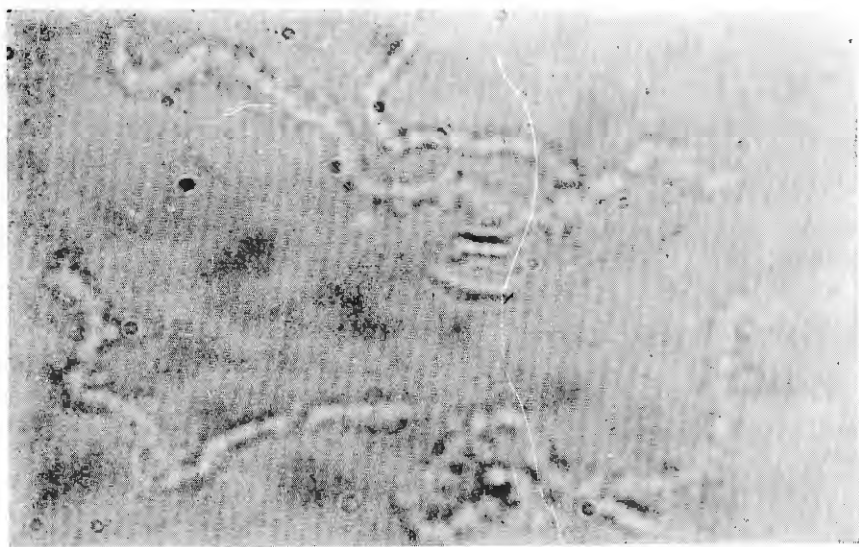


Fig. 5 —Obsérvese el aspecto de la vaina corroída en un cultivo de 24 horas en infusión de zanahoria.

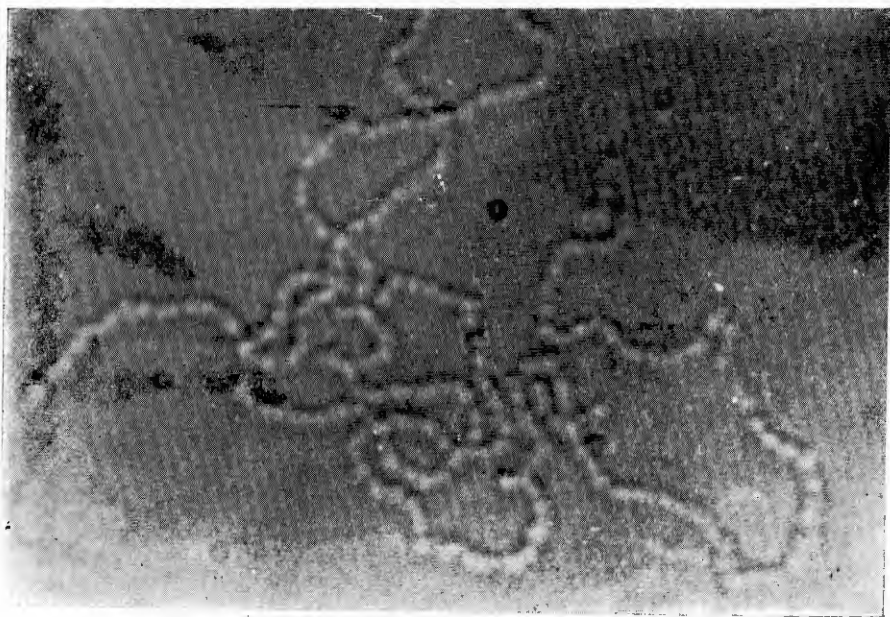


Fig. 6.—Microfotografía de un cultivo en infusión de levadura. 400 x aumentado.

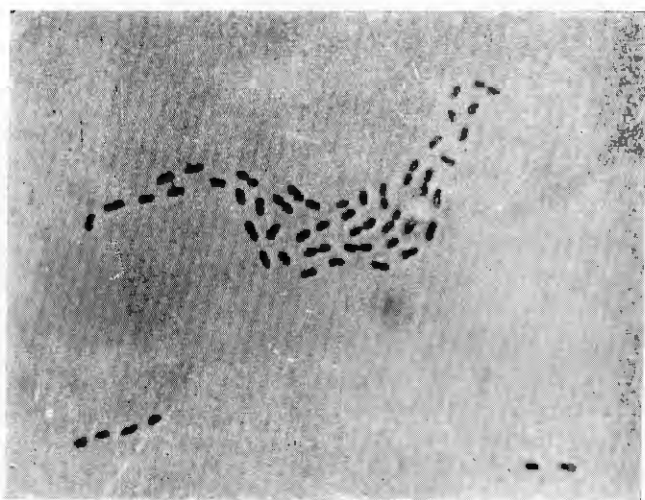


Fig. 7.—Preparación teñida de Gram de un cultivo en infusión de zanahoria.

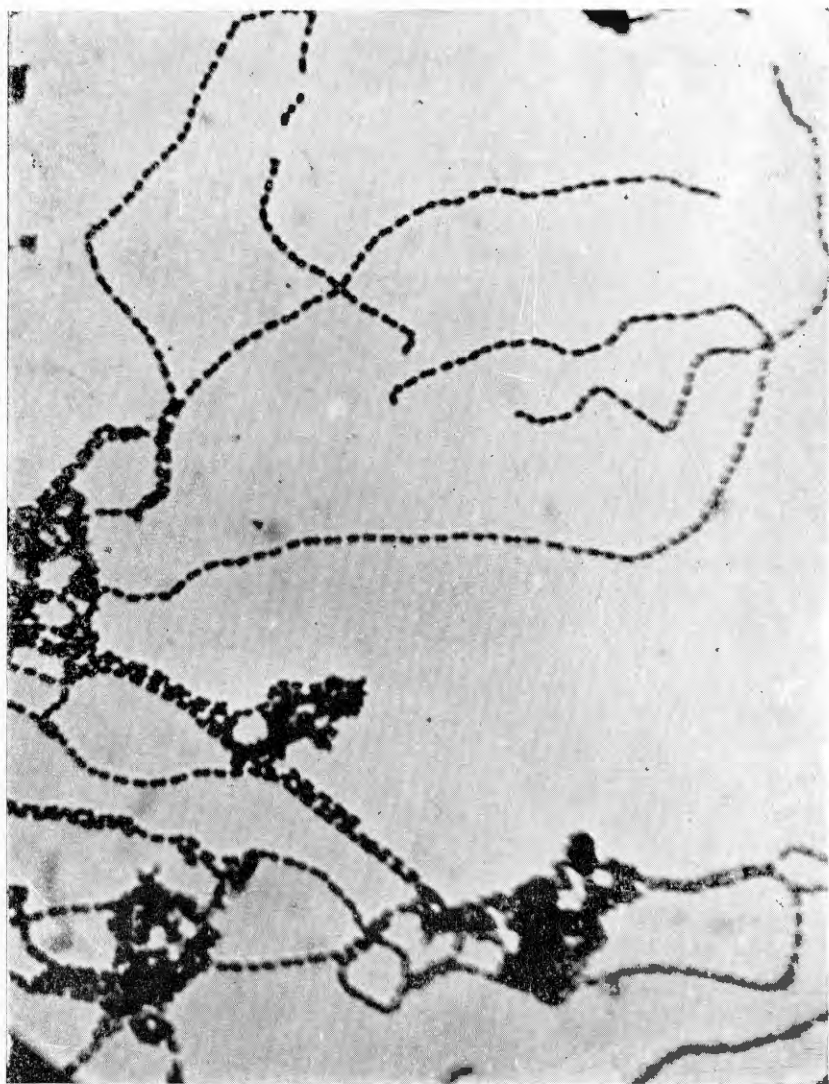


Fig. 8.--Microfotografía de un cultivo en mosto teñido con cristal violeta.

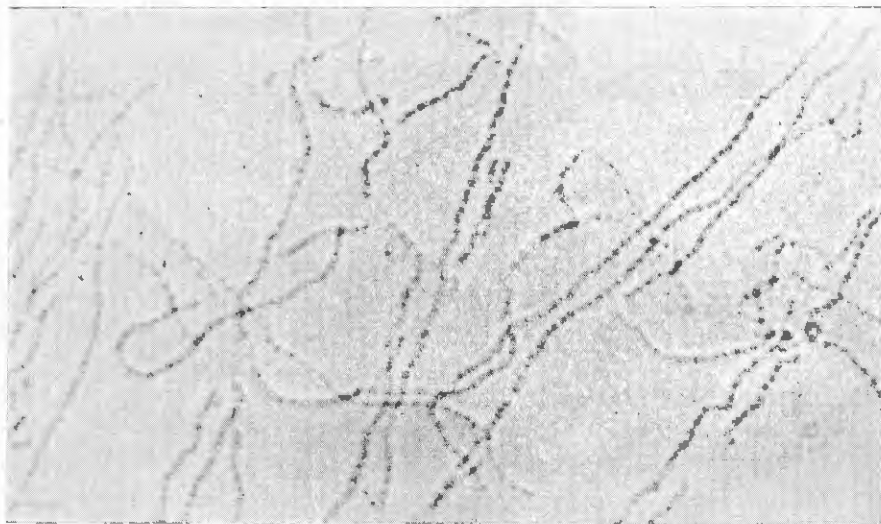


Fig. 9.—Microfotografía de un cultivo en mosto. 400 x aumentado.

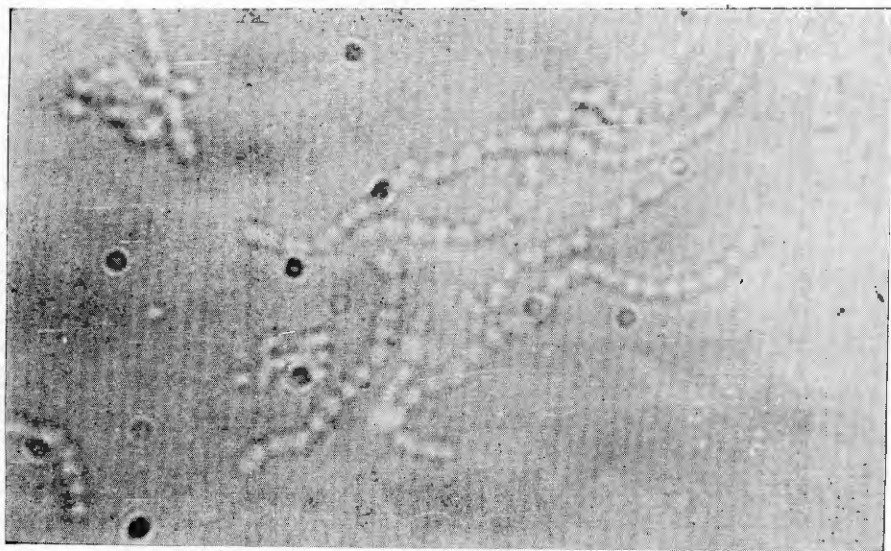


Fig. 10.—Microfotografía de un cultivo en mosto. 900 x aumentado. Nótese la falta de vaina.

**Tamaño:**

|                   |                                                                                                                            |
|-------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Formas ovaladas.  | $\left\{ \begin{array}{l} \text{largo: 0.9 micras.} \\ \text{ancho: 0.5 micras. Con vainas 2 micras.} \end{array} \right.$ |
| Formas esféricas. | $\left\{ \begin{array}{l} \text{largo: 0.6 micras.} \\ \text{ancho: 0.5 micras.} \end{array} \right.$                      |

**Lados:** Cuando tiene cápsula ésta es corroída de los lados.

**Ordenamiento:** Diploestreptococo.

**Movilidad:** No tiene.

**Esporas:** No forma.

**Reacciones de tinción:**

Gram: positivo (técnica empleada Gram-Hucker).

Ziehl-Neelsen: negativo.

Toma bien los colorantes de anilina.

**Pleomorfismo:** No hay.

**Cápsula:** *Leuconostoe viscosum* cuando crece en ciertos medios vegetales y animales y así mismo en el aguamiel desarrolla una gruesa cápsula de aspecto corroído cuya composición es de dextrana lo que deducimos de las siguientes reacciones:

La reacción del Biuret es negativa.

Tratada por el ácido nítrico en caliente produce cristales de ácido oxálico pero no produce cristales de ácido múico.

La ptialina la digiere.

El iodo la tiñe en amarillo moreno.

En agua forma un coloide que se disuelve por adición de álcali y que precipita con alcohol acético.

Por hidrólisis con ácidos fuertes da dextrosa.

No se tiñe con los colorantes de anilina.

#### IV.—Caracteres de cultivo.

##### a) Medios líquidos.

En el aguamiel esterilizado al autoclave, el *Leuconostoe viscosum* no da los mismos caracteres macroscópicos que en el aguamiel sin esterilizar. El aspecto de los copos no es compacto y asimismo el desarrollo no es muy abundante. Añadiendo al aguamiel sacarosa aumenta el desarrollo un poco. Por no ser este un medio "estandarizado" no anotamos en detalle los caracteres de cultivo. (Fig. 11).

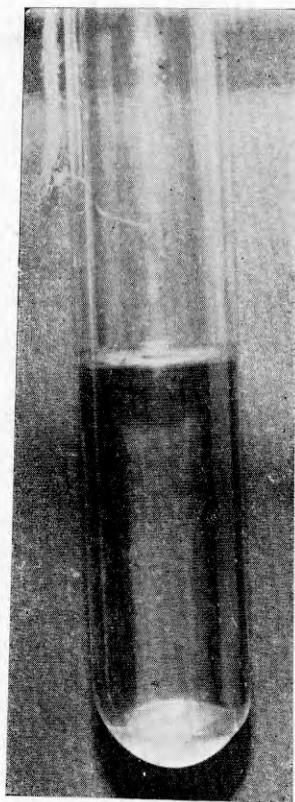


Fig. 11.—Fotografía de un cultivo en aguamiel esterilizado al autoclave.

### 1. Infusión de zanahoria.

pH óptimo.

Temperatura 18°C.

Crecimiento en superficie; No hay.

Enturbiamiento: No hay.

**Sedimento:** A las 6 horas de sembrado se observa el primer crecimiento en forma de copos que al agitarse se desintegran completamente. A las 24 horas el sedimento es abundante, blanco completamente, formando una masa compacta mucosa que agitándose suavemente flota toda ella; al agitar fuerte se desintegra totalmente en turbando el medio, pero al poco tiempo se vuelve a sedimentar for-

mando ese copo compacto tan característico. Asimismo característica es la formación de un crecimiento coposo a lo largo de la pared del tubo que desaparece, es decir se sedimenta durante las 48 horas de desarrollo. A las 72 horas el sedimento ha aumentado un poco. De ese tiempo en adelante el desarrollo ya no aumenta ni varía.

Olor: No hay.

No se tiñe el medio.

(Fig. 12a)

## 2. Infusión de jitomate.

pH óptimo.

Temperatura 18°C.

Crecimiento en superficie: No hay.

Enturbamiento: No hay.

**Sedimento:** A las 6 horas de sembrado más o menos se observa el primer crecimiento en forma de pequeños copos. A las 24 horas el sedimento es abundante, blanco, muy semejante a aquel que se forma en infusión de zanahoria. A las 48 horas el sedimento es ligeramente mayor que en infusión de zanahoria. El copo grande, mucoso es visiblemente más compacto que en infusión de zanahoria. Al agitarse se desintegra en copos pequeños, que flotan largo tiempo yéndose a la superficie. Difícilmente se desintegran por completo. También en este medio se nota en el segundo día la formación del cultivo a lo largo de la pared del tubo, crecimiento que se sedimenta más o menos a las 72 horas.

Olor: No hay.

No se tiñe el medio.

(Fig. 12b).

## 3. Infusión de patata.

pH. óptimo.

Temperatura 18°C.

El desarrollo es muy semejante al formado en infusión de jitomate, sólo que es un poco menos abundante y menos compacto (Fig. 13b).

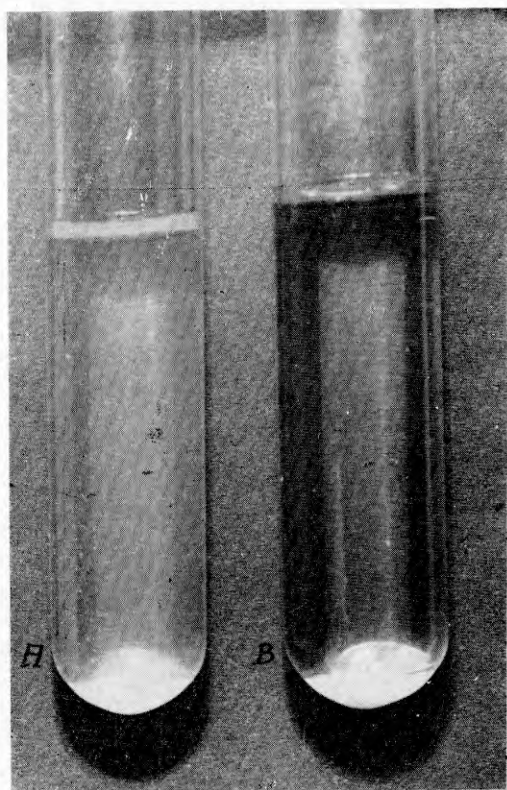


Fig. 12. A.—Fotografía de un cultivo en infusión de zanahoria. B. En infusión de jitomate.

#### 4. Infusión de Levadura.

pH. óptimo.

Temperatura 18°C.

El desarrollo es rápido, más aún que en infusión de zanahoria. Por lo demás los caracteres son semejantes (Fig. 13a).

#### 5. Infusión de Levadura sacarosada:

pH. óptimo.

Temperatura 18°C.

Igual que en infusión de levadura.

**6. Mosto.**

pH. óptimo.

Temperatura 18°C.

Crecimiento en superficie: No hay.

Enturbiamiento: No hay.

**Sedimento:** A las 24 horas hay gran desarrollo de sedimento, formado por copos grandes no muy compactos. A los 3 días el desarrollo es muy abundante semejante al que se forma en infusión de jitomate. Se observa el crecimiento a lo largo de la pared del tubo. (Fig. 13c).

**7. Caldo nutritivo.**

pH. óptimo.

Temperatura 18°C.

Crecimiento en superficie: No hay.

Enturbiamiento: No hay.

**Sedimento:** A las 24 horas se nota un ligerísimo sedimento que aumenta un poco en las siguientes 48 horas. Está constituido por copos pequeñísimos que al agitarse se deshacen completamente. El desarrollo no aumenta ya después de los 3 días, es pues muy escaso. Se nota el crecimiento a lo largo de la pared del tubo.

Olor: No hay.

No se tiñe el medio.

8. En caldo glucosa y en caldo levulosa el desarrollo es muy semejante al de en caldo nutritivo, aunque ligerísimamente más abundante.

**9. Caldo sacarosa.**

pH. óptimo.

Temperatura 18°C.

Crecimiento en superficie: No hay.

Enturbiamiento: No hay. (Fig. 13d).

**Sedimento:** A las 24 horas apenas existe un desarrollo. A las 48 horas el sedimento es moderado, blanco, constituyendo copes pequeños, que al agitarse se reúnen para formar una masa compacta. Se observa crecimiento a lo largo de la pared del tubo. (Fig. ).

b) **Medios sólidos.**

10. **Zanahoria gelosa.**

pH. óptimo.

Temperatura 18°C.

**Colonia en placa:**

Tamaño: A los 8 días 2 mm. de diámetro.

Forma: Irregular.

Elevación: Elevada.

Estructura interna: granular fina.

Bordes: Ondulados.

Color: Blanco.

Caracteres ópticos: Ligeramente opaca.

Superficie: Lisa.

Diferenciación: Hay ligera diferenciación en una zona externa más gruesa y una interna más delgada.

(Fig. 16).

**Cultivo en estría:**

Desarrollo: A las 24 horas se ven a lo largo de la estría pequeñas colonias blancas, esféricas. Es la estría que más se ha desarrollado en comparación con las de los demás medios empleados. Las colonias van creciendo llegando a tocarse una que otra con la vecina. A los ocho días las colonias son más o menos de 2 mm. de diámetro.

Forma de crecimiento: Moniliforme.

Elevación: Elevada.

Superficie: Lisa.

Color: Blanco.

Acción sobre el medio: No hay.

Brillo: Si tiene.

Caracteres ópticos: opaca.

(Fig. 14a).

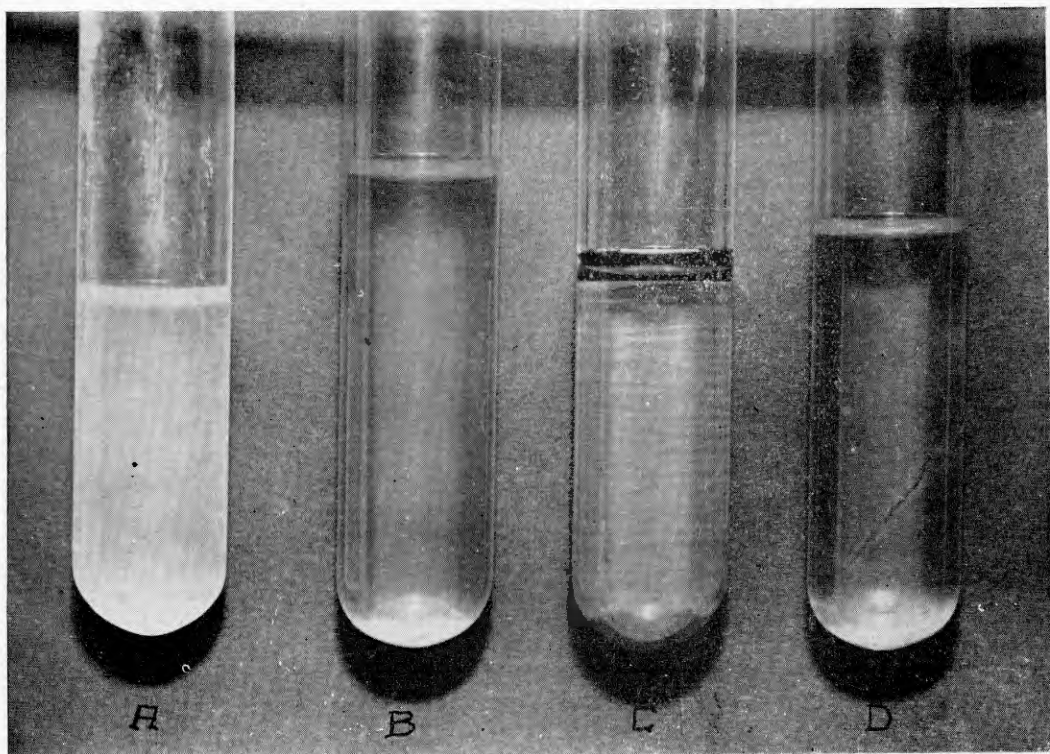


Fig. 13.—A. Fotografía de un cultivo en infusión de levadura; B. En infusión de patata; C. En mosto; D. En caldo sacarosa.

### Cultivo en picadura.

Desarrollo: Moderado.

Forma: Moniliforme.

Extensión: Hasta el fondo del tubo.

Crecimiento en superficie: 4 mm. de diámetro, superficie lisa, bordes lisos.

Acción sobre el medio: No hay.

### 11. Infusión de jitomate gelosado.

pH, óptimo.

Temperatura 18°C.

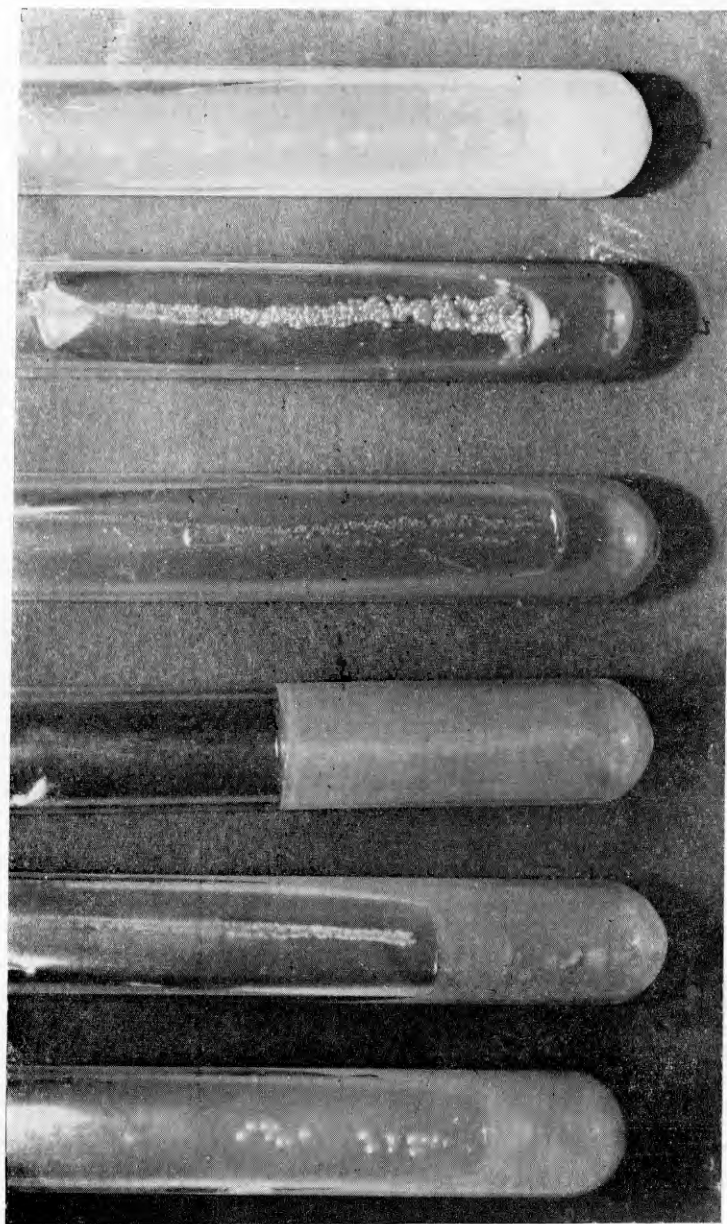


Fig. 14.—Fotografía de un cultivo: A. En zanahoria gelosa; B. en jitomate gelosa (cultivo en estría); C. en jitomate gelosa (cultivo en picadura); D. En mosto gelosa; E. En caldo gelosa aguamiel; F. En gelosa sacæ rosa.

**Colonia en placa.**

Tamaño: 6 mm. de diámetro, a los 8 días.

Forma: Irregular.

Elevación: Plana.

Estructura interna: Granular fina.

Bordes: Auriculados.

Color: Blanco cremoso.

Caracteres ópticos: Opaca.

Superficie: Lisa.

Diferenciación: Hay diferenciación en una porción central de caracteres ópticos diferentes a una periférica.

(Fig. 17).

**Cultivo en estría.**

Desarrollo: A las 24 horas ya se ven colonias pequeñas. A los 8 días las colonias son muy numerosas sin confluir completamente.

Forma de crecimiento: Moniliforme.

Elevación: Plana.

Superficie: Lisa.

Bordes: Lobulados en las partes de la estría donde confluyen las colonias.

Color: Blanco cremoso.

Acción sobre el medio: No hay.

Brillo: Bastante pronunciado.

Caracteres ópticos: Opaca.

(Fig. 14b).

**Cultivo en picadura.**

Desarrollo: Abundante.

Forma: Moniliforme.

Extensión: Hasta el fondo del tubo.

Superficie: Más o menos 5 mm., lisa, mojada. con bordes lobulados.

Color: Blanca.

Acción sobre el medio: No hay.

(Fig. 14c).

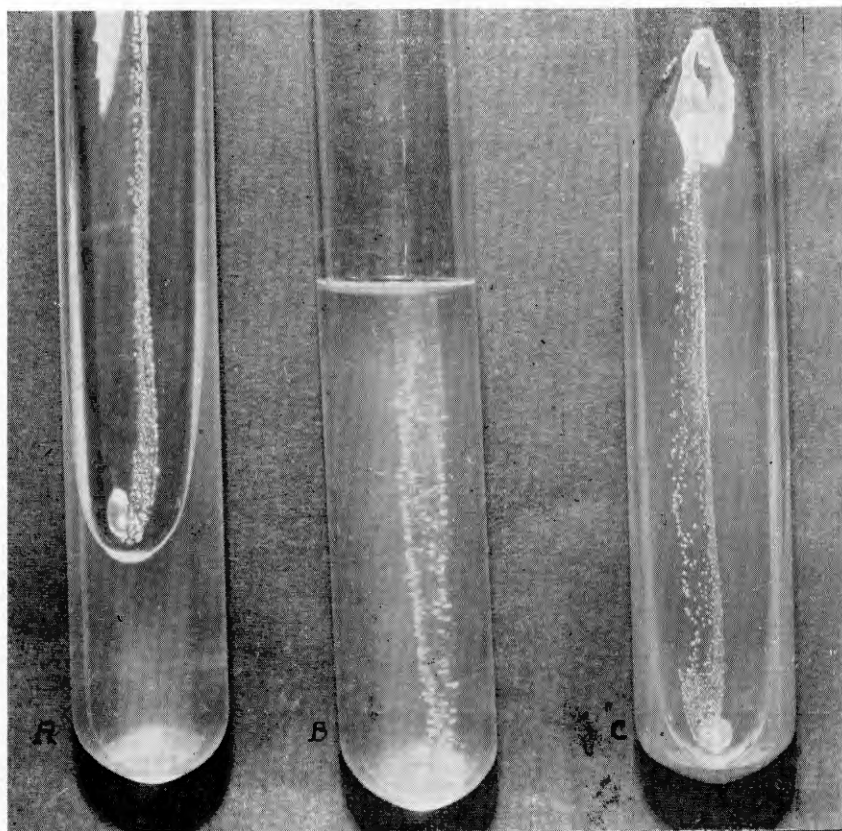


Fig. 15 — Fotografía de un cultivo: A, en gelatina sacarosa (cultivo en estría); B, en gelatina sacarosa (cultivo en picadura); C, en mosto gelatina (cultivo en estría).

## 12. Infusión de patata gelosada.

pH. óptimo.

Temperatura 18°C.

### Colonia en placa.

Tamaño: 4 mm. de diámetro, a los 8 días.

Forma: Irregular.

Elevación: Plana.

Estructura interna: Granular.

Bordes: Ondulados.

Color: Blanco.

Caracteres ópticos: Opaca.

Superficie: Lisa.

Diferenciación: No hay.

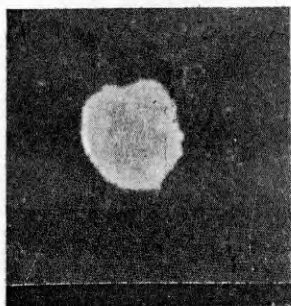


Fig 16.—Colonia en placa  
en infusión de zanahoria  
gelosa.

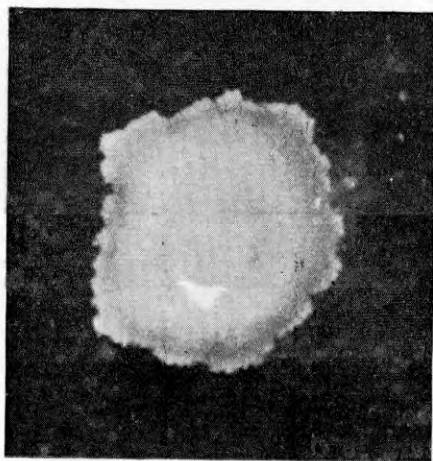


Fig. 17.—Colonia en placa en infusión  
de jitomate.

### Cultivo en estría.

Desarrollo: Pequeñas colonias que crecen alcanzando un diámetro un poco mayor a las de en gelosa jitomate.

Forma de crecimiento: Moniliforme.  
Elevación: Ligeramente elevada.  
Superficie: Lisa.  
Color: Blanco.  
Acción sobre el medio: No hay.  
Brillo: Brillante.  
Caracteres ópticos: Opaca.

### **Cultivo en picadura.**

Desarrollo: Moderado.  
Forma: Moniliforme.  
Extensión: Hasta el fondo del tubo.  
Superficie: Un poco menor que en los medios anteriores.  
Acción sobre el medio: No hay.

### **13. Mosto gelosado.**

pH. óptimo.  
Temperatura 18°C.

### **Cultivo en estría.**

Desarrollo: Moderado.  
Forma de crecimiento: Moniliforme.  
Elevación: Plana.  
Superficie: Lisa.  
Color: Cremoso.  
Caracteres ópticos: Opaca.  
(Fig. 14d).

### **Cultivo en picadura.**

Desarrollo: Moderado.  
Forma: Moniliforme.  
Extensión: Hasta el fondo del tubo  
Superficie: Lisa.  
Acción sobre el medio: No hay.

14. **Caldo aguamiel gelosado.**

pH. óptimo.

Temperatura 18°C.

**Colonia en placa.**

Tamaño: 2.5 mm., de diámetro a los 4 días.

Forma: Irregular.

Elevación: Elevada.

Estructura interna: Granular fina.

Bordes: Lobulados.

Color: Blanco cremoso.

Caracteres ópticos: Opaca.

Superficie: Lisa.

Diferenciación: No hay.

(Fig. 18).

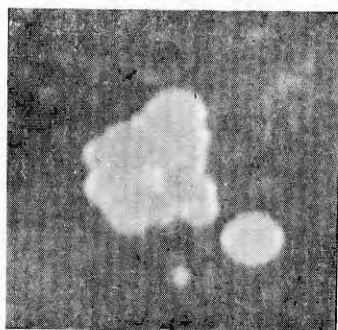


Fig. 18 —Colonia en placa en  
aguamiel caldo gelosa.

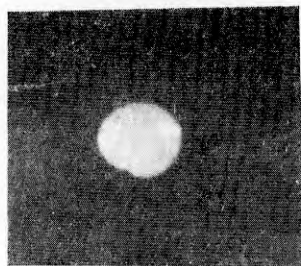


Fig. 19.—Colonia en placa  
en agar sacarosa.

**Cultivo en estría.**

Desarrollo: Abundante.

Forma de crecimiento: Al principio moniliforme pero ya al cuarto día se hace confluyente.

Elevación: Elevada.

Superficie: Lisa.

Bordes: Lobulados.

Color: Blanco cremoso.

Brillo: Brillante.

Caracteres ópticos: Opaca.

(Fig. 14c).

15. **En aguamiel gelosa.** El desarrollo es semejante sólo que no es tan abundante.

16. **Agar nutritivo.**

pH. óptimo.

Temperatura 18°C.

**Colonia en placa.**

Tamaño: 2 mm., de diámetro a los 8 días.

Forma: Conglomerada.

Elevación: Plana.

Estructura interna: Granular.

Color: Blanco.

Caracteres ópticos: Opaca.

Superficie: Lisa:

Diferenciación: No hay.

**Cultivo en estría.**

Desarrollo: Escaso.

Forma de crecimiento: Moniliforme.

Elevación: Plana.

Superficie: Lisa.

Color: Blanco.

Brillo: Bastante brillante.

**Cultivo en picadura.**

Desarrollo: Escaso.

Forma: Moniliforme.

Extensión: Hasta el fondo.

Superficie: Escasa.

Acción sobre el medio: No hay.

17. En gelosa glucosa y en gelosa levulosa, los caracteres son semejantes y únicamente el desarrollo es un poco mayor.

**18. Agar sacarosa.**

pH. óptimo.

Temperatura 18°C.

**Colonia en placa.**

Tamaño: 1 mm. a los 8 días.

Forma: Circular.

Elevación: Convexa.

Estructura interna: Granular gruesa.

Bordes Enteros.

Color: Blanco cremoso

Caracteres ópticos: Opaca.

Superficie: Lisa.

Diferenciación: No hay.

(Fig. 19).

**Cultivo en estría.**

Desarrollo: Abundante.

Forma de crecimiento: Al principio moniliforme luego se vuelve confluyente.

Elevación: Elevada.

Superficie: Lisa.

Bordes: Enteros.

Color: Blanco cremoso.

Brillo: Muy brillante.

Caracteres ópticos: Opaca.

(Fig. 14f).

**Cultivo en picadura.**

El desarrollo es muy abundante, por lo demás, semejante en todos sus caracteres al desarrollo en zanahoria gelosa.

19. En gelosa sangre no se mejora el desarrollo. No se produce hemolisis.

**20. Zanahoria.**

Temperatura 18°C.

**Colonia en placa.**

Tamaño: 4 mm. a los 8 días.

Forma: Circular algo irregular.

Elevación: Convexa.

Bordes: Enteros ligeramente lobulados.

Color: Blanco.

Caracteres ópticos: Opalino.

Superficie: Lisa.

Diferenciación: No hay.

**Cultivo en estría.**

Desarrollo: Abundante.

Forma de crecimiento: Al principio moniliforme, luego confluyente, ligeramente extendido.

Elevación: Elevada.

Superficie: Lisa.

Bordes: Ondulados.

Color: Blanco.

Brillo: Poco brillante.

Acción sobre el medio: No hay.

(Fig. 22).

**21. Patata.**

Temperatura 18°C.

**Colonia en placa.**

Tamaño: 4 mm. de diámetro a los 8 días.

Forma: Amiboide.

Elevación: Poco elevada.

Bordes: Lobulados.

Color: Blanco.

Superficie: Lisa.

Diferenciación: Ligeramente más elevada en los bordes.  
(Fig. 20).

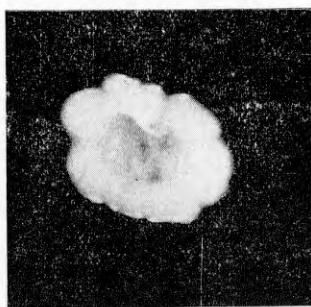


Fig. 20 — Colonia en placa en patata.

**Cultivo en estría.**

Desarrollo: Abundante.

Forma de crecimiento: Extendido.

Elevación: Elevada.

Bordes: Lobulados.

Color: Blanco.

Acción sobre el medio: No hay.

Brillo: Brillante.

(Fig. 21).

En medios adicionales de **gelatina**, no se observa licuefacción. Las estrías son bien desarrolladas, moniliformes de colonias muy pequeñas. Se nota que cuando la gelatina lleva sacarosa el desarrollo es más abundante y las colonias son más grandes. En picadura crece abundantemente.

De las pequeñas colonias de la estría moniliforme, en mosto ge-

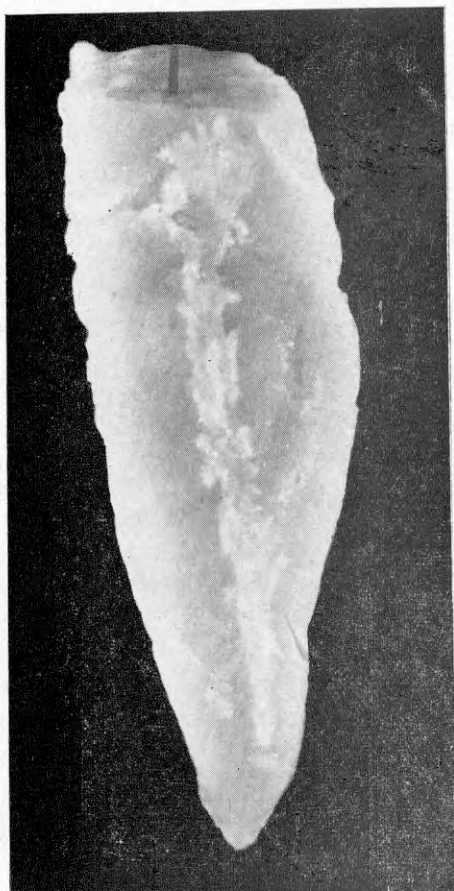


Fig. 21.—Cultivo en estría en patata.

latina fué de donde aislamos el gérmen, en virtud de que en este medio pierde su vaina.

(Figs. 15a, b y c).

#### V. Caracteres bioquímicos.

##### Influencia del pH del medio sobre el desarrollo.

Medio de cultivo: Infusión de zanahoria.

Temperatura 18°C.

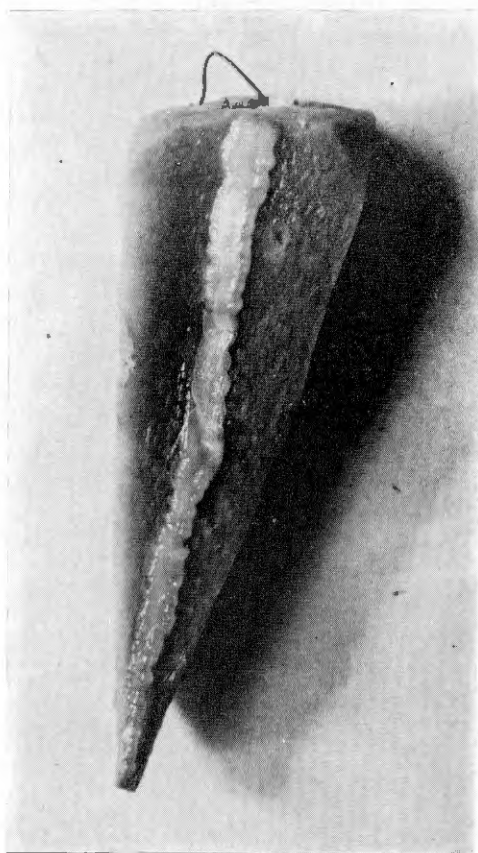


Fig. 22.—Cultivo en estría en zanahoria.

Resultados:

pH óptimo: 6.0 a 6.5.

pH mínimo: 4.0.

pH máximo: 8.5.

#### Influencia de la temperatura sobre el desarrollo.

Medio de cultivo: Infusión de zanahoria.

pH. óptimo.

Resultados:

Temperatura óptima: 20 a 25°C.

Temperatura mínima: 8°C.

Temperatura máxima: 31°C.

**Cromogénesis:** No hay.

**Reducción de los nitratos:** No reduce.

**Reducción del peróxido de hidrógeno.**

Medio: Caldo en tubos de Smith.

pH. óptimo.

Temperatura 18°C.

Resultado: Negativo.

### **Hidrólisis del almidón.**

Medio: Agave nutritivo con 0.2 % de almidón soluble.

pH. óptimo.

Temperatura 18°C.

Resultado: Negativo.

**Acción sobre la leche:** No tiene.

**Relación al oxígeno:** Aerobio facultativo.

**Producción de H<sub>2</sub>S.**

Medio: Agar con acetato de plomo.

Resultado: Negativo.

**Producción de indol.**

Medio: Caldo con triptófano.

Reactivo: Ehrlich.

Resultado: Negativo.

**Poder fermentativo.** Produce ácidos sin gas a partir de: glucosa, fructosa, manosa, sacarosa y manitol.

No tiene acción sobre: arabinosa, ramnosa, xilosa, galactosa, lactosa, maltosa, rafinosa, inulina, dextrina, sorbitol, dulcitol, adonitol y salicina.

**Vitalidad.** En infusión de zanahoria a 18°C. vive únicamente 24 días.

### **VI. Clasificación.**

En virtud de los caracteres microscópicos (estreptococo encapsulado), bioquímicos (vaina formada por dextrana), y culturales (mejor desarrollo en medios vegetales y extracto de levadura), estimamos que el germen en estudio es *Leuconostoc* y no *Streptococcus*. Conservamos la especie de Carbajal por derecho de prioridad aunque su descripción haya sido errónea.

A continuación se resumen los caracteres principales de las tres especies de *Leuconostoc*, de la especie que estudiamos, y de un estrept-

tococo no patógeno, *Streptococcus cremoris*, porque son los gérmenes con los cuales hay que hacer la diferenciación.

|                      | <i>Leuconostoc mesenteroides</i> .                               | <i>Leuconostoc dextranicum</i>                                   | <i>Leuconostoc citrovorum</i>             | <i>Leuconostoc viscosum</i>                       | <i>Streptococcus cremoris</i> . |
|----------------------|------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|---------------------------------------------------|---------------------------------|
| Forma                | Esferas                                                          | Esferas                                                          | Esferas                                   | Esferas                                           | Esferas                         |
| Tamaño               | 0.9 á 1.2 micras                                                 | 0.6 á 1.0 micras                                                 | 0.6 á 1.0 micras                          | 0.6 á 0.9 micras                                  | 0.6 á 0.7 micras                |
| Ordenamiento         | En pares o en cadenas cortas o largas.                           | En pares o en cadenas cortas.                                    | En pares o en cadenas                     | En pares o en cadenas cortas o largas.            | En cadenas largas.              |
| Cápsula              | En soluciones azucaradas, cápsula gruesa gelatinosa de dextrana. | En soluciones azucaradas, cápsula gruesa gelatinosa de dextrana. | ?                                         | En ciertos medios azucarados cápsula de dextraña. | La cápsula no es de dextrana    |
| Picadura en gelatina | No la licúa<br>Crece en toda la picadura.                        | No la licúa<br>Crece en toda la picadura.                        | No la licúa<br>Crece en toda la picadura. | No la licúa<br>Crece en toda la picadura.         | ?                               |
| Dextrosa             | +                                                                | +                                                                | +                                         | +                                                 | +                               |
| Levulosa             | +                                                                | +                                                                | +                                         | +                                                 | +                               |
| Galactosa            | +                                                                | +                                                                | +                                         | —                                                 | +                               |
| Manosa               | +                                                                | + ó —                                                            | —                                         | +                                                 | +                               |
| Xilosa               | +                                                                | —                                                                | —                                         | —                                                 | —                               |
| Arabinosa            | +                                                                | —                                                                | —                                         | —                                                 | —                               |
| Sacarosa             | +                                                                | +                                                                | —                                         | +                                                 | —                               |
| Lactosa              | + ó —                                                            | + ó —                                                            | +                                         | —                                                 | +                               |
| Rafinosa             | + ó —                                                            | — ó +                                                            | —                                         | —                                                 | —                               |
| Ramnosa              | + ó —                                                            | —                                                                | —                                         | —                                                 | —                               |
| Dextrina             | + ó —                                                            | —                                                                | —                                         | —                                                 | —                               |
| Inulina              | + ó —                                                            | —                                                                | —                                         | —                                                 | —                               |
| Almidón              | + ó —                                                            | ?                                                                | —                                         | —                                                 | —                               |
| Manita               | + ó —                                                            | —                                                                | —                                         | +                                                 | —                               |

|                     | <i>Leuconostoc mesenteroides.</i> | <i>Leuconostoc dextranicum</i> | <i>Leuconostoc citrovorum</i> | <i>Leuconostoc viscosum</i> | <i>Streptococcus cremoris.</i> |
|---------------------|-----------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|-----------------------------|--------------------------------|
| Adonita             | ?                                 | ?                              | ?                             | —                           | —                              |
| Dulcita             | ?                                 | ?                              | ?                             | —                           | —                              |
| Sorbita             | + 6 —                             | —                              | —                             | —                           | —                              |
| Glicerina           | + 6 —                             | ?                              | —                             | ?                           | —                              |
| Salicina            | + 6 —                             | ?                              | —                             | —                           | —                              |
| Patata              | No hay crecimiento visible.       | No hay crecimiento visible.    | No hay crecimiento visible.   | Crecimiento abundante.      | ?                              |
| Indol               | No se forma                       | No se forma                    | No se forma                   | No se forma                 | ?                              |
| Leche               | ?                                 | Acido y coágulo.               | Acidifica ligeramente         | No actúa                    | Acidifica y coagula.           |
| Nitratos            | No reduce                         | No reduce                      | No reduce                     | No reduce                   | ?                              |
| Temperatura óptima. | 21° C                             | 21 á 25° C.                    | 20 á 25° C.                   | 20 á 25° C.                 | 20° C.                         |

## RESUMEN

1. Se describe una bacteria del aguamiel.
2. Se hace un nuevo arreglo de nomenclatura.
3. Se le da el nombre de *leuconostoc viscosum* (Carbajal, 1901).
4. Los caracteres principales son los siguientes:

Esferas de 0.6 micras de diámetro o ligeramente ovales de 0.9 x 0.5 micras, que se arreglan como diploestreptococos formando cadenas cortas o largas. En algunos medios vegetales presenta una vaina gruesa corroída de dextrana. En algunos medios animales con ciertos azúcares, también presenta vaina. Inmóvil. Gram positivo. No hay formas irregulares.

Picadura en gelatina: No hay licuefacción.

Colonias en agar: Pequeñas, irregulares de estructura interna, granular fina.

Color: Blanco.

Estría en agar y gelatina: Moniliforme.

Picadura en agar y gelatina: Moniliforme, muy abundante.

Caldo: No lo enturbia.

Medios líquidos vegetales: Forma sedimento coposo de consistencia compacta.

Leche: No actúa.

Patata: Desarrollo abundante.

Indol: No forma.

Nitratos: No reduce.

H<sub>2</sub>S: No forma.

Forma ácido a partir de glucosa, levulosa, manosa, sacarosa y manitol.

No forma gas.

Temperatura óptima: 20 a 25°C.

pH óptimo: 6 a 6.5.

Aerobio facultativo.

No hidroliza el almidón.

No produce cromogénesis.

Habitación: Aguamiel.

### SUMMARY.

- 1 — Description of a bacterium from the "aguamiel" (juice from agave atrovirens Karw).
- 2 — A new arrangement of nomenclature is made.
- 3 — It is named *Leuconostoc viscosum* (Carbajal 1901).
- 4 — The characteristics are as follows:

Spheres: 0.0006 mm. of diameter or 0.0009 mm. X 0.0005 mm. when ovoid. Occurring as diplostreptococcus forming long or short chains. In some vegetable media they present a thick sheath of dextran. Also in some animal media additioned with sugars, the sheath is present. Non mobile —Gram positive— No irregular forms.

Gelatin stab: No liquefaction.

Agar colonies: Little, irregular, interne structure finely granular, white.

Agar and gelatin slant: Beaded.

Agar and gelatin stab: Abundant growth.

Liquid vegetable media: Abundant, flocculent.

Milk: No action.

Potato: Abundant growth.

Indol: Not formed.

Nitrates: Not reduced.

H<sub>2</sub>S: Not formed.

Acid formed in glucose, levulose, mannose, sacarose, and mannitol.

No production of gas.

Optimum temperature: 20°-25°C.

Optimum pH: 6 a 6.5.

Chromogenesis: Not produced.

Starch not hydrolized.

Aerobic, facultative.

Habitat: Aguamiel.

### ZUSAMMENFASSUNG.

Die Autoren schildern eine Bakterienart des "Aguamiel". Sekretionsprodukt der Magueypflanze *Agave atrovirens* Karw.

Es wird eine Verbesserung der Nomenklatur vorgenommen.

Es handelt sich um *Leuconostoc viscosum* (Carbajal, 1901). Diese Bakterie hat folgende wichtige Eigenschaften.

Kokken: 0.0006 mm. Durchmesser oder etwas länglich von 0.0009 mm. X 0.0005 mm. In langen oder kurzen Ketten von Diploestrep-tokokken. In einigen Kulturnährböden (tierische und pflanzliche) besitzen sie eine dicke Scheide welche aus Dextran besteht. Gram positiv. Es wurden keine unregelmässigen Formen beobachtet.

Stichkultur in Gelatine: Keine Liquefaktion.

Plattenkulturen in Agar: Klein, unregelmässig, die innere Struktur fein gekörnert, undurchsichtig weiss.

Strichkultur in Agar und Gelatine: Moniliform.

Stichkultur in Agar und Gelatine: Starkes Wachstum.

Nährbouillon: Wird nicht trübe.

Pflanzliche flüssige Kulturnährboden: Bildet starkes Sediment von kompakter Konsistenz.

Milch: Keine Wirkung.

Kartoffelkultur: Starke Entwicklung.

Indol: Wird nicht gebildet.

Nitrate: Werden nicht reduziert.

H<sub>2</sub>S: Wird nicht gebildet.

Bildet Säure von: Glukose, Levulose, Mannose, Sacarose und Mannitol.

Temperatur optimum: 20 a 25°C.

pH optimum: 6 a 6.5.

Keine Farbbildung.

Hydrolysiert die Stärke nicht.

Aerob fakultativ.

Vorkommen: Im Aguamiel.

## B I B L I O G R A F I A

- ALTAMIRANO, F.—Contribución al estudio del pulque.—En: Anales del Instituto Médico Nacional Tomo II, p. 52. México, 1896
- BERGEY H. DAVID.—Bergey's Manual of Determinative Bacteriology Fifth Edition. 1939
- CARBAJAL, ANTONIO J.—Estudio sobre el pulque, considerado principalmente desde el punto de vista zimotécnico.—En: Boletín de la Sociedad Agrícola Mexicana. Vol. 255, números 33 y 34. México, 1901
- La fermentación racional del pulque.—En: Memorias y Revista de la Sociedad "Antonio Alzate". Tomo 32, p. 219. México, 1912.
- GAVIÑO, Dr. A.—Estudio higiénico-bacteriológico del pulque.—En: Revista Quincenal de Anatomía Patológica y Clínicas Médica y Quirúrgica. Tomo I, p. 246. México, 1896.
- Micro-organismos del Pulque.—En: Boletín del Instituto Patológico. Tomo I, pp. 14 y 44. México, 1901.
- LINDNER, PAUL.—La importancia práctica y científica del estudio del pulque.—En Revista Mexicana de Biología. Tomo 6, p. 221. México, 1926.
- Atlas der mikroskopischen Grundlagen der Garungskunde. Berlin, 1928.
- Mikroskopische und biologische Betriebskontrolle in den Garungsgewerben. Berlin. 1930.
- O'GORMAN Y ALLEN.—Exámen general y analítico del pulque que se expende en la Ciudad de México. Imprenta "Murguía", México. 1909.
- SANCHEZ MARTINEZ, DORA.—Contribución al estudio bacteriológico de la flora anaeróbica del pulque. Facultad de Ciencias Químicas. Tesis. Vol. 5, No. 3. México, 1932
- NOTA: Citamos este trabajo solamente porque en sus páginas se encuentra citado el *Leuconostoc*, pero abunda en errores, es incompleto y la clasificación es equivocada.
-