

00322



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

12

FACULTAD DE CIENCIAS

LEVADURAS Y MOHOS AISLADOS DE
SECRECIONES GOMOSAS DE NOPAL, *Opuntia*
ficus-indica

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
B I Ó L O G A

P R E S E N T A :

GRACIELA LARCE ROCHA

DIRECTORES DE TESIS:
DRA. PATRICIA ESTHER LAPPE OLIVERAS
DR. MIGUEL ARMANDO ULLOA SOSA



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2003



FACULTAD DE CIENCIAS
SECCION ESCOLAR



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

PAGINACIÓN DISCONTINUA



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Graciela Arce Rocha
FECHA: 17-09-03
FIRMA: [Signature]

DRA. MARÍA DE LOURDES ESTEVA PERALTA
Jefa de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo escrito:

"Levaduras y mohos aislados de secreciones gomosas de nopal,
Opuntia ficus-indica".

realizado por Graciela Arce Rocha

con número de cuenta 8453267-3 , quién cubrió los créditos de la carrera de Biología

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis
Propietario
Codirector de Tesis
Propietario
Propietario
Suplente
Suplente

Dra. Patricia Esther Lappe Oliveras Patricia Lappe O.
Dr. Miguel Armando Ulloa Sosa Miguel Ulloa Sosa
Dr. Teófilo Herrera Suárez T. Herrera
M. en C. Víctor Hugo Valenzuela Gasca [Signature]
Bíol. Samuel Aguilar Ogarrio [Signature]

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Consejo Departamental de Biología

[Signature]
M. en C. Juan Manuel Rodríguez Chávez

FACULTAD DE CIENCIAS



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO
DEPARTAMENTO DE ENSEÑANZA
DE BIOLOGÍA

Vale más terminar un asunto que comenzarlo.

Eclesiastés 7: 8a

**Y todo lo que te venga a la mano, hazlo con todo empeño,
porque en el sepulcro, a donde te diriges, no hay trabajo ni
planes ni conocimiento ni sabiduría.**

Eclesiastés 9: 10

**Todo esfuerzo tiene su recompensa, pero quedarse solo en
palabras lleva a la miseria.**

Proverbios 14: 23

A mi Padre:

**Por que uno de tus anhelos era verme
terminar este trabajo**

A mi Madre:

Por tu apoyo y ánimo constante

A mis hermanos:

Por su ejemplo como estudiantes

A Néstor:

**Por que aunque sé que me amas
incondicionalmente quiero que te sientas
orgullosa de mí**

A mi hijo Emiliano:

**Por que eres una de mis principales
motivaciones**

A todos mis mejores amigos:

Por sus retos, ánimo y buen ejemplo

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México y autoridades del Instituto de Biología por brindarme el espacio y los materiales para la realización de mi trabajo profesional.

A la Dra. Patricia Esther Lappe Oliveras, directora de esta tesis, por su constante paciencia, enseñanza, estímulo y corrección.

Al Dr. Miguel Ulloa Sosa, codirector de esta tesis.

A los miembros de la comisión dictaminadora, por la revisión de esta tesis:

Dra. Patricia Esther Lappe Oliveras

Dr. Miguel Armando Ulloa Sosa

Dr. Teófilo Herrera Suárez

M. en C. Víctor Hugo Valenzuela Gasca

Biól. Samuel Aguilar Ogarrio

Al Biól. Calixto Benavides por su valiosa colaboración en la toma de fotografías de la zona de muestreo.

Al Biól. Samuel Aguilar por su inapreciable ayuda en la digitalización de fotografías y formato e impresión de este trabajo.

Al M. en C. Víctor Hugo Valenzuela por su ayuda en la elaboración de la presentación de esta tesis.

Al personal del Laboratorio de Micología del Instituto de Biología de la UNAM y en general a todos los que de una u otra forma colaboraron conmigo.

ÍNDICE

Resumen	1
1. Introducción	3
1.1. Antecedentes sobre tópicos.....	3
1.2. Secreciones gomosas de nopal.....	6
1.3. Comunidad, hábitat y nicho de levaduras.....	7
1.4. Selección de hábitats por levaduras.....	8
1.5. Levaduras aisladas de tejidos necrosados de cactáceas.....	8
1.6. Levaduras aisladas de exudados de árboles.....	10
1.7. Levaduras asociadas con insectos.....	15
2. Objetivos	16
3. Materiales y métodos	17
3.1. Procedencia de las muestras.....	17
3.2. Aislamiento de la micobiota.....	17
3.3. Identificación de los aislamientos de levaduras.....	18
3.4. Identificación de los aislamientos de <i>Penicillium</i>	19
4. Resultados y Discusión	26
5. Conclusiones	38
6. Literatura citada	47

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1. Microbiota aislada de tibicos.....	5
Mapa 1. San Francisco Tecoxpa, Milpa Alta, México D. F.....	20
Tabla 2. Levaduras aisladas de pudriciones de diferentes especies de <i>Opuntia</i> y de exudados de algunas especies de árboles por varios autores.....	11
Tabla 3. Características morfológicas, fisiológicas y bioquímicas consideradas para la identificación de levaduras (van der Walt y Yarrow, 1984; Yarrow, 1998).....	21
Tabla 4. Metodología propuesta por Lachance <i>et al.</i> (1988) para la identificación de levaduras aisladas de pudriciones de cactáceas.....	22
Tabla 5. Resumen de la metodología propuesta por Pitt (1985) para la identificación de especies del género <i>Penicillium</i>	23
Tabla 6. Micobiota aislada de secreciones gomosas de nopal.....	27
Tabla 7. Recuento total de microorganismos (ufc/g) aislados de las secreciones gomosas de nopal e identificados.....	32
Tabla 8. Características macro y micromorfológicas de las especies de levaduras aisladas de las secreciones gomosas de nopal.....	33
Tabla 9. Características morfológicas, fisiológicas y bioquímicas de las especies de levaduras aisladas de las secreciones gomosas de nopal.....	35
Tabla 10. Principales diferencias en algunas de las características morfológicas, fisiológicas y bioquímicas observadas en la cepa "L" con respecto a las diagnósis de las especies <i>Fellomyces penicillatus</i> y <i>Pseudozyma fusiformata</i> presentadas en las monografías de Kurtzman y Fell (1998) y Barnett <i>et al.</i> 2000.....	37

Fig. 1. Esquema del régimen utilizado para inocular y cultivar los aislamientos del género <i>Penicillium</i> en los medios de cultivo estandarizados.....	24
Fig. 2. Penicilos del más simple (monoverticilado) al más complejo (terverticilado) encontrados normalmente en especies del género <i>Penicillium</i>.....	25
Figs. 3-5. Nopalera localizada en San Francisco Tecoxpa, Milpa Alta, México, D. F.....	40
Figs. 6-8. Secreciones gomosas endurecidas formadas sobre cladodio de nopal.....	40
Fig. 9. Secreción gomosa endurecida formada sobre cladodio de nopal.....	41
Fig. 10. Granos de tibicos cultivados en agua con piloncillo.....	41
Fig. 11. Granos de tibicos rehidratados.....	41
Fig. 12. Secreción gomosa de nopal rehidratada.....	41
Figs. 13-15. <i>Candida famata</i> var. <i>famata</i>.....	41
Figs. 16-18. <i>Candida guilliermondii</i>.....	42
Figs. 19-23. <i>Candida lambica</i>.....	42
Figs. 24-27. <i>Clavispora opuntiae</i>.....	43
Figs. 28-31. <i>Rhodotorula mucilaginosa</i>.....	43
Figs. 32-37. <i>Pseudozyma fusiformata</i>.....	44
Figs. 38-42. <i>Penicillium aurantiogriseum</i>.....	45
Figs. 43-46. <i>Penicillium crustosum</i>.....	45
Figs. 47-48. <i>Penicillium griseofulvum</i>.....	46
Figs. 49-50. <i>Penicillium</i> sp. (1).....	46
Figs. 51-52. <i>Penicillium</i> sp. (2).....	46
Figs. 53-54. <i>Penicillium</i> sp. (3).....	46

RESUMEN

Con el fin de establecer las semejanzas existentes entre los tibicos y las secreciones gomosas del nopal *Opuntia ficus-indica*, se determinó la micobiota presente en secreciones gomosas, aislándose 30 microorganismos, de los cuales 6 correspondieron al género *Penicillium*, habiéndose identificado *P. aurantiogriseum* (1), *P. crustosum* (1), *P. griseofulvum* (1), y *Penicillium* spp. (3). Los 24 aislamientos restantes correspondieron a levaduras determinadas como *C. guilliermondii* (1), *C. lambica* (7), *C. famata* var. *famata* (1), *Clavispora opuntiae* (12), *Rhodotorula mucilaginosa* (2) y *Pseudozyma fusiformata* (1). Las secreciones gomosas de las que se hicieron los aislamientos se encontraron asociadas a una especie de gusano barrenador no identificada. De la micobiota presente, sólo *Cl. opuntiae* es autóctona de pudriciones de diferentes especies de *Opuntia*, y por la afinidad que guarda con insectos cactófilos vectores, quizá tenga una relación directa con el gusano barrenador del nopal. Las demás especies aisladas son aloctonas o generalistas, bien distribuidas en otros hábitats. De acuerdo a su composición química y microbiana, los tibicos, las secreciones gomosas de nopal y las pudriciones de cactus, son hábitats para levaduras totalmente diferentes entre sí. Y por su composición química particular sólo las pudriciones de cactáceas son nichos de especiación para levaduras. El escarabajo barrenador del nopal en sus diferentes estadios representa un hábitat para levaduras hasta ahora no estudiado que puede contener nuevas especies. Se requieren de más investigaciones para determinar la

microbiota asociada al gusano barrenador y poder dilucidar su relación con las especies aisladas en este trabajo.

INTRODUCCIÓN

Antecedentes sobre tibicos

Los tibicos son microbiogleas o macrocolonias, en forma de masas compactas y gelatinosas, de color blanquecino a amarillento, translúcidas u opalescentes, de forma irregular y de tamaño variable, desde unos cuantos milímetros hasta 1 o 2 cm. Están compuestos principalmente por agua y una matriz de dextranas donde se encuentran embebidas diversas bacterias y levaduras (Rubio *et al.*, 1993), constituyendo una asociación simbiótica muy estable (Horisberger, 1969; Moinas *et al.*, 1980). Aunque el origen de los tibicos es incierto se piensa son originarios de México, ya que la primera descripción de ellos fue presentada por Lutz (1898, 1899 a y b), quien encontró estas masas gelatinosas, semejantes a granos de arroz cocido, a los que denominó "tibi", en los cladodios y frutos de varias especies de *Opuntia*.

Horisberger (1969) estudió la estructura química de la dextrana de estas microbiogleas y determinó que era un polisacárido sintetizado por *Lactobacillus brevis*, constituido por cadenas de glucopiranosidos, con enlaces alfa (1-6), formando el esqueleto principal, y enlaces alfa (1-3) ramificados (Pidoux, 1988, 1989).

En 1980 Moinas y colaboradores dilucidaron la estructura de los tibicos mediante microscopía de luz, de barrido y de transmisión. Establecieron que la dextrana, componente de la matriz de dichas microbiogleas, se encuentra dispuesta en dos capas: una externa, compacta y densamente poblada de lactobacilos, estreptococos y levaduras, y otra interna, de estructura esponjosa, debido a la acumulación de CO₂ producido

durante el proceso de fermentación, en donde la dextrana es más abundante y hay menor cantidad de microorganismos.

Los tibicos se han utilizado en México desde la época precortesiana para producir bebidas lácticas ligeramente alcohólicas (tepache de tibicos), cuando el tiempo de fermentación es corto (1 o 2 días), pero cuando el proceso se prolonga por más tiempo (2 a 3 semanas) el tepache de tibicos se transforma en una bebida alcohólica-acética o acética, que es el vinagre de tibicos (Ruiz-Oronoz, 1932; Hesseltine, 1965; Taboada *et al.*, 1987; Ulloa *et al.*, 1987 b; Rubio *et al.*, 1993).

El tepache de tibicos es una bebida fermentada, de origen indígena, que consume mucha gente en México con el fin de adelgazar, combatir la arterioesclerosis y prevenir algunos males cardíacos; este uso es totalmente empírico y aún no existen bases científicas para recomendarlo. Según la conseja popular, su consumo frecuente puede causar lesiones renales u otras alteraciones (Saint-Phard Delva, 1984; Taboada *et al.*, 1987; Godoy, 1987; Ulloa *et al.*, 1987 a)

En Inglaterra, Francia y Suiza, los tibicos se utilizan para producir bebidas fermentadas ácidas, ligeramente alcohólicas, como el sugary kefir y la cerveza de jengibre o ginger beer (Hesseltine, 1965; Pidoux *et al.*, 1988, 1989).

En 1987, Taboada y colaboradores demostraron que los tibicos podían utilizarse como complemento para la alimentación de animales de traspatio. En 1988 Díaz-Garcés y colaboradores sugirieron que la producción de tibicos podría instrumentarse a nivel casero, también para el consumo humano directo.

Desde 1898 se han realizado diversos estudios microbianos sobre tibicos que han permitido identificar algunas de las especies de estreptococos, bacterias lácticas y levaduras que los componen (Tabla 1).

Tabla 1. Microbiota aislada de tibicos.

Referencias de los autores	Microbiota aislada
Lutz, 1898, 1899a, 1899b	<i>Saccharomyces radaisii</i> ¹ , <i>Bacillus mexicanus</i> ¹
Ruiz Oronoz, 1932	<i>Pichia radaisii</i> ¹ , <i>Sacch. radaisii</i> ¹
Moreno y Díaz, 1932	<i>Escherichia coli</i> , <i>Bacillus megaterium</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>Acetobacter peroxidans</i> , <i>Sacch. ellipsoideus</i> (= <i>Sacch. cerevisiae</i>), <i>Proteus vulgaris</i>
Mascott y Terrés, 1952	<i>Sacch. oviformis</i> (= <i>Sacch. cerevisiae</i>), <i>Sacch. bayanus</i> , <i>Pichia chodati</i> var. <i>trumpy</i> (= <i>P. membranifaciens</i>), <i>Cyaneobacterium</i> spp.
Hesseltine, 1965	<i>Bacterium vermiforme</i>
Horisberger, 1969	<i>Lactobacillus brevis</i> , <i>Streptococcus lactis</i> , <i>Sacch. cerevisiae</i>
Ulloa y Herrera, 1981	<i>Pichia membranifaciens</i> , <i>Sacch. cerevisiae</i>
Herrera <i>et al.</i> , 1984	<i>Klebsiella oxytoca</i>
Estrada Cuéllar, 1985	<i>Brettanomyces intermedius</i> (= <i>Dekkera bruxellensis</i>), <i>Sacch. cerevisiae</i>
Calderón y Herrera, 1989	<i>Sacch. cerevisiae</i> raza <i>steineri</i> (= <i>Sacch. cerevisiae</i>), <i>Zygosaccharomyces fermentati</i> (= <i>Torulaspota delbrueckii</i>), <i>Brettanomyces intermedius</i> (= <i>Dekkera bruxellensis</i>)
Pidoux, 1989	<i>Zygosaccharomyces florentinus</i> , <i>Torulaspota pretoriensis</i> (= <i>Sacch. pretoriensis</i>), <i>Candida valida</i> , <i>C. lambica</i> , <i>Kloeckera apiculata</i> , <i>Lactobacillus hilgardii</i> , <i>L. casei</i> spp. <i>casei</i> , <i>L. casei</i> spp. <i>ramnosus</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>Leuconostoc mesenteroides</i> , <i>Streptococcus lactis</i> , <i>S. cremoris</i>
Armijo <i>et al.</i> , 1991	<i>C. valida</i> , <i>C. famata</i>
Lappe <i>et al.</i> , 1992	<i>C. valida</i> , <i>Cryptococcus albidus</i> var. <i>albidus</i> (= <i>Cry. albidus</i>), <i>Pichia kluyveri</i> , <i>Sacch. cerevisiae</i> , <i>Schizosaccharomyces pombe</i>
Rubio <i>et al.</i> , 1993	<i>Brettanomyces clausseni</i> , <i>Candida guilliermondii</i> , <i>C. valida</i> , <i>Cry. albidus</i> , <i>Rhodotorula rubra</i> (= <i>R. mucilaginoso</i>), <i>Sacch. cerevisiae</i> , <i>Bacillus brevis</i> , <i>B. circulans</i> , <i>B. coagulans</i> , <i>B. firmus</i> , <i>B. macerans</i> , <i>B. polymyxa</i> , <i>B. pumilus</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i> (= <i>Klebsiella mobilis</i>)

1. Para algunas especies no se encontró el nombre válido actual.

Secreciones gomosas de nopal

Los tibicos aislados por Lutz en 1898 de cladodios y frutos de *Opuntia* se asemejan a las secreciones gomosas de la misma planta. Éstas son exudados que al contacto con el aire se van endureciendo paulatinamente. Sirven para taponar las heridas causadas por diversos animales (pequeños mamíferos, roedores, escarabajos y otros insectos) o por un daño mecánico provocado por factores ambientales o por el hombre (Coronado, 1939; Bravo, 1964), inmovilizando bacterias que pueden causar infecciones a la planta (Kircher, 1982). Las secreciones gomosas se han encontrado asociadas con diversas plagas del nopal, como el picudo barrenador, *Cactophagus spinolae*, y el picudo de la espina, *Cylindrocopturus birradiatus* (Coronado, 1939; Bravo, 1964; Brom, 1970). Al alimentarse de los cladodios y troncos del nopal, las larvas y los adultos hacen galerías, cuyas entradas quedan taponadas con las gomas o mucílagos que fluyen de las heridas y que forman parte de los tejidos de la planta (Coronado, 1939).

En diferentes especies de *Opuntia* se ha determinado la composición química de las gomas y los mucílagos; así la "goma cholla" de *O. fulgida* (Sands y Klaas, 1929; Mc Garvie y Parolis, 1979), la goma de *O. megacantha* (Churms *et al.*, 1973, citado por Mc Garvie y Parolis, 1979) y el mucílago de *O. ficus-indica* (Amin *et al.*, 1970; McGarvie y Parolis, 1979; Paulsen y Lund, 1979), que es una forma hortícola de *O. megacantha* (Benson y Walkington, 1968), tienen la misma composición: ácido galacturónico, galactosa, xilosa y ramnosa, con la excepción de la goma de *O. megacantha*, que en vez de ácido galacturónico contiene ácido glucurónico. Las secreciones gomosas de *O. ficus-indica* son el mucílago deshidratado y endurecido por el contacto con el aire, por lo que su composición química es la misma que la del mucílago.

En las secreciones gomosas se han encontrado embebidas algunas levaduras, como *Candida lambica*, *C. valida*, *Cryptococcus albidus* var. *albidus* y *Pichia kluyveri* (Lappe y Ulloa, 1990), de las cuales *C. lambica* y *Cr. albidus* var. *albidus* han sido reportadas también para tибicos (Lappe *et al.*, 1992; Rubio *et al.*, 1993).

Comunidad, hábitat y nicho de levaduras

Las levaduras no se encuentran aisladas en la biosfera sino formando comunidades que son entidades constituidas por varias poblaciones de diferentes especies agrupadas en un área determinada. Una comunidad se define por su hábitat y por su nicho, entendiendo por hábitat el lugar físico en el que vive una asociación de levaduras, y por nicho el papel que juega cada una de las diferentes especies en la comunidad biótica, incluyendo los requerimientos alimenticios de cada especie, y sus interrelaciones de competencia o simbiosis (Arana, 1990). Las especies de levaduras aisladas de una misma comunidad pueden tener diferentes nichos que se superponen unos con otros en un determinado hábitat. En un mismo hábitat coexisten tanto especies autóctonas como aloctonas. Las autóctonas son componentes esenciales de la comunidad y ocupan un hábitat singular, por lo que se consideran especialistas, que de acuerdo a sus habilidades nutricionales son oligotróficas, es decir, necesitan pocas fuentes alimenticias para desarrollarse; las aloctonas son especies transitorias en la comunidad, se presentan fortuitamente, están dotadas de un nicho amplio que les permite ocupar varios hábitats, se consideran generalistas y son politróficas, es decir, que tienen la capacidad de asimilar gran cantidad de nutrientes (Lachance *et al.*, 1988; Lachance y Starmer, 1998).

Selección de hábitats por levaduras

En las levaduras es muy notoria la especialización por el hábitat, lo cual parece ser la regla más que la excepción (Phaff y Starmer, 1980). Recientemente se ha realizado una activa investigación en relación a la ecología de las levaduras. Se han reconocido nuevos hábitats, como son insectos, exudados y pudriciones de plantas (resinas, secreciones gomosas, tejidos necrosados de frutos y tallos), en los que se han encontrado nuevas especies de levaduras.

Debido a la necesidad de crecer en sustratos con nutrientes específicos para su desarrollo, las levaduras están lejos de ser tan cosmopolitas como muchas especies de bacterias. Sin embargo, su habilidad para asimilar una gran variedad de fuentes de carbono ha expandido su posibilidad para ocupar diversos hábitats (Bowles y Lachance, 1983; Phaff y Starmer, 1980).

Dentro de los factores que determinan qué comunidades de levaduras ocupen un hábitat y nicho específicos están: su especialización fisiológica intrínseca, su capacidad de competencia (comensalismo, toxinas zimocidas o antibiosis hacia bacterias, mohos y otras especies de levaduras), su resistencia a compuestos secundarios de las plantas que pueden inhibir su crecimiento, su tolerancia a factores ambientales como la concentración de oxígeno, la temperatura, la humedad y el pH, entre otros, y su interrelación con insectos vectores, adultos y en estado larvario (Starmer *et al.*, 1980, 1987, 1988a, b; Starmer y Phaff, 1983; Barker y Starmer, 1982).

Levaduras aisladas de tejidos necrosados de cactáceas

Los tejidos de cactáceas en estado de pudrición son un hábitat altamente específico para ciertas comunidades de levaduras. Los microorganismos asociados con el proceso de

podrición son inoculados por animales vectores después de que la planta ha sufrido un daño causado por heladas, insectos, aves, algunos mamíferos o el hombre (Lachance *et al.*, 1988).

Primero el tejido se pudre lentamente por la acción de diferentes especies de bacterias, como *Erwinia cacticida*, *E. herbicola*, *E. uredovora*, *Xanthomonas fragariae*, *Citrobacter freundii*, y *Staphylococcus aureus*, entre otras (Foster y Fogleman, 1993), y los compuestos que se producen durante la fermentación bacteriana atraen a los insectos vectores, como especies cactófilas de *Drosophila*, que inoculan en el tejido de la planta a las levaduras que servirán de alimento a sus larvas (Fogleman, 1982). Dentro de las comunidades de levaduras aisladas de tejidos necrosados de cactáceas se han encontrado especies cactófilas, autóctonas (residentes) típicas de estos hábitats, como *Pichia cactophila*, *Candida sonorensis* y *Sporopachydermia cereana* (Tabla 2) (Rosa *et al.*, 1994), que son oligotróficas, lo que indica que forman parte de comunidades especializadas (Bowles y Lachance, 1983). También se presentan levaduras no cactófilas, aloctonas (transitorias), nutricionalmente politróficas, como *Rhodotorula mucilaginosa*, *Candida famata* y *C. guilliermondii* (Lachance *et al.*, 1988), que se encuentran también en otros sustratos (Davenport, 1980, Kurtzman y Fell, 1998, Lachance y Starmer, 1998).

La composición química de los tejidos de cactáceas es un factor limitante que determina las especies que forman las comunidades de levaduras que se desarrollan en ellos, así como la presencia de insectos vectores que se asocian a dichas comunidades. Las modificaciones en la composición química de varias especies de cactáceas representan estrategias bioquímicas necesarias para asegurar su supervivencia (Janzen, 1973). Los compuestos secundarios en especies de cactus columnares no pueden ser asimilados

por muchas especies de levaduras limitando potencialmente su crecimiento (Lachance *et al.*, 1988), y por ser también tóxicos para otros organismos forman una defensa efectiva contra el ataque por depredadores (Starmer y Phaff, 1983). Se han encontrado más especies de levaduras en tejidos de *Opuntia* que en cactus columnares, ya que no tienen compuestos tóxicos, como glucósidos de triterpeno o acetato de etilo. Debido a la presencia de monosacáridos (glucosa, galactosa) en los tejidos de especies del género *Opuntia*, durante el proceso de pudrición, las levaduras son las que ocupan primero el hábitat, mientras que en especies columnares, debido a la existencia de azúcares complejos (glucósidos de triterpeno y de fenol), alcaloides, lípidos y esteroides, es necesaria la intervención de bacterias para iniciar el proceso de pudrición (Lachance *et al.*, 1988).

Levaduras aisladas de exudados de árboles

Al igual que las pudriciones de cactus columnares, los exudados producidos por diferentes especies de árboles al ser dañados mecánicamente, son hábitats selectivos para levaduras oligotróficas (Tabla 2), debido a la presencia de hidrocarburos de monoterpeno que son compuestos tóxicos para ciertos microorganismos (Andrews *et al.*, 1980, citado por Leufvén y Nehls, 1986). El tipo de levaduras que se desarrollan en ellos depende de varios factores como: la composición química y las características físicas de los exudados, los insectos asociados a los exudados, la localización geográfica de los árboles, la cantidad y el tipo de vegetación adyacente, y la interacción con otros organismos vivos (Bowles y Lachance, 1983).

Tabla 2. Levaduras aisladas de pudriciones de diferentes especies de *Opuntia* y de exudados de algunas especies de árboles por varios autores.

Especie de levadura	Sustrato de aislamiento	Autores
<i>Arthroascus javanensis</i> (= <i>Saccharomycopsis javanensis</i>)	Exudado de <i>Quercus rubra</i>	Bowles y Lachance, 1983 Lachance et al., 1982
<i>Candida boidinii</i>	<i>Opuntia</i> sp. <i>O. stricta</i> Exudado de <i>Q. rubra</i> Exudado de <i>Q. rubra</i> y <i>Pseudotsuga menziesii</i>	Lachance et al., 1988 Barker et al., 1984 Bowles y Lachance, 1983 Lachance et al., 1982
<i>C. caseinolytica</i>	<i>Opuntia</i> sp.	Lachance et al., 1988
<i>C. deserticola</i>	<i>O. phaeacantha</i>	Ganter, 1988
<i>C. diddensii</i> (= <i>C. diddensiae</i>)	<i>O. tomentosa</i>	Barker et al., 1984
<i>C. krissii</i> (= <i>C. zeylanoides</i>)	<i>O. streptacantha</i> , <i>O. stricta</i> , <i>O. tomentosa</i> Exudado de <i>Q. kelloggii</i>	Barker et al., 1984 Shehata et al., 1955
<i>C. lipolytica</i>	<i>O. stricta</i> , <i>O. tomentosa</i>	Barker et al., 1984
<i>C. maritima</i>	Exudado de <i>P. menziesii</i>	Lachance et al., 1982
<i>C. mesenterica</i>	Exudado de <i>P. menziesii</i>	Lachance et al., 1982
<i>C. mucilagina</i> (= <i>Myxozyma mucilagina</i>)	<i>Opuntia</i> sp. <i>O. stricta</i>	Lachance et al., 1988 Barker et al., 1984
<i>C. mycoderma</i> (= <i>C. vini</i>)	Exudado de <i>Q. kelloggii</i>	Shehata et al., 1955
<i>C. norvegica</i>	Exudado de <i>Q. rubra</i> Exudado de <i>Q. rubra</i> y <i>Ulmus americana</i>	Bowles y Lachance, 1983 Lachance et al., 1982
<i>C. parapsilosis</i>	Lesión de <i>Q. kelloggii</i> y lesión de pino	Shehata et al., 1955
<i>C. pulcherrima</i>	<i>O. monacantha</i> , <i>O. stricta</i> , <i>O. tomentosa</i> Exudado de <i>Q. rubra</i> Lesión de <i>Q. kelloggii</i>	Barker et al., 1984 Bowles y Lachance, 1983 Lachance et al., 1982 Shehata et al., 1955
<i>C. sake</i>	Exudado de <i>Q. rubra</i>	Bowles y Lachance, 1983 Lachance et al., 1982
<i>C. shatavii</i>	Exudado de <i>U. americana</i>	Lachance et al., 1982
<i>C. sonorensis</i>	<i>O. phaeacantha</i> <i>O. streptacantha</i> , <i>O. stricta</i> , <i>O. tomentosa</i>	Ganter, 1988 Barker et al., 1984
<i>C. sorbosa</i>	<i>O. stricta</i>	Barker et al., 1984
<i>C. tenuis</i>	<i>O. tomentosa</i>	Barker et al., 1984
<i>C. vanderwallii</i>	<i>O. streptacantha</i>	Barker et al., 1984
<i>Clavispora opuntiae</i>	<i>Opuntia</i> sp.	Lachance et al., 1988
<i>Clavispora</i> sp.	<i>O. monacantha</i> , <i>O. streptacantha</i> , <i>O. stricta</i> , <i>O. tomentosa</i>	Barker et al., 1984

Tabla 2. Continuación.

Especie de levadura	Sustrato de aislamiento	Autores
<i>Cryptococcus albidus</i>	<i>O. stricta</i> , <i>O. tomentosa</i> Exudado de <i>Q. rubra</i> Exudado de pino	Barker <i>et al.</i> , 1984 Bowles y Lachance, 1983 Shehata <i>et al.</i> , 1955
<i>Cry. albidus</i> var. <i>diffluens</i> (= <i>Cry. diffluens</i>)	<i>O. tomentosa</i>	Barker <i>et al.</i> , 1984
<i>Cry. cereanus</i> (= <i>Sporopachydermia cereana</i>)	<i>O. phaeacantha</i> <i>Opuntia</i> sp. <i>O. monacantha</i> , <i>O. streptacantha</i> , <i>O. stricta</i> , <i>O. tomentosa</i>	Ganter, 1988 Lachance <i>et al.</i> , 1988 Barker <i>et al.</i> , 1984
<i>Cry. gastricus</i>	Exudado de <i>U. americana</i>	Lachance <i>et al.</i> , 1982
<i>Cry. laurentii</i> var. <i>laurentii</i> (= <i>Cry. laurentii</i>)	<i>O. stricta</i> , <i>O. tomentosa</i> Exudado de <i>Q. rubra</i>	Barker <i>et al.</i> , 1984 Bowles y Lachance, 1983 Lachance <i>et al.</i> , 1982
<i>Cry. luteolus</i>	<i>O. stricta</i> , <i>O. tomentosa</i> Exudado de <i>Q. rubra</i> Exudado de <i>U. americana</i>	Barker <i>et al.</i> , 1984 Bowles y Lachance, 1983 Lachance <i>et al.</i> , 1982
<i>Cry. macerans</i>	<i>O. monacantha</i> , <i>O. stricta</i>	Barker <i>et al.</i> , 1984
<i>Cry. magnus</i>	Exudado de <i>U. americana</i>	Lachance <i>et al.</i> , 1982
<i>Debaryomyces hansenii</i>	<i>O. monacantha</i> , <i>O. streptacantha</i> , <i>O. stricta</i> , <i>O. tomentosa</i> Exudado <i>Q. rubra</i>	Barker <i>et al.</i> , 1984 Bowles y Lachance, 1983 Lachance <i>et al.</i> , 1982
<i>Deb. polymorphus</i>	Exudado de <i>Q. rubra</i>	Bowles y Lachance, 1983 Lachance <i>et al.</i> , 1982
<i>Dipodascus australiensis</i>	<i>Opuntia</i> sp.	Lachance <i>et al.</i> , 1988
<i>Geotrichum penicillatum</i> (= <i>G. klebahnii</i>)	Exudado de <i>Q. rubra</i> Exudado de <i>Q. rubra</i> y <i>P. menziesii</i>	Bowles y Lachance, 1983 Lachance <i>et al.</i> , 1982
<i>Geotrichum</i> sp.	<i>Opuntia</i> sp.	Lachance <i>et al.</i> , 1988
<i>Hanseniaspora guilliermondii</i>	<i>O. monacantha</i>	Barker <i>et al.</i> , 1984
<i>Hansenula californica</i> (= <i>Willopsis californica</i>)	<i>O. stricta</i>	Barker <i>et al.</i> , 1984
<i>Hansenula glucozyma</i> (= <i>Pichia glucozyma</i>)	<i>O. stricta</i>	Barker <i>et al.</i> , 1984
<i>Hansenula minuta</i> (= <i>P. minuta</i>)	Exudado de <i>Populus tremuloides</i>	Lachance <i>et al.</i> , 1982
<i>Hansenula polymorpha</i> (= <i>Pichia angusta</i>)	<i>O. phaeacantha</i> <i>Opuntia</i> sp. <i>O. stricta</i> Exudado de <i>Q. kelloggii</i>	Ganter, 1988 Lachance <i>et al.</i> , 1988 Barker <i>et al.</i> , 1984 Shehata <i>et al.</i> , 1955
<i>Hansenula</i> sp.	Exudado de <i>Populus tremuloides</i>	Lachance <i>et al.</i> , 1982
<i>Kloeckera apiculata</i>	<i>O. stricta</i> Exudado de <i>U. americana</i>	Barker <i>et al.</i> , 1984 Lachance <i>et al.</i> , 1982
<i>Klo. japonica</i>	<i>O. stricta</i>	Barker <i>et al.</i> , 1984
<i>Kluyveromyces drosophilorum</i> (= <i>K. lactis</i>)	Exudado de <i>Q. rubra</i>	Bowles y Lachance, 1983 Lachance <i>et al.</i> , 1982
<i>K. vanudenii</i> (= <i>K. lactis</i> var. <i>drosophilorum</i>)	Exudado de <i>U. americana</i>	Lachance <i>et al.</i> , 1982

Tabla 2. Continuación.

Especie de levadura	Sustrato de aislamiento	Autores
<i>Pichia amethionina</i> var. <i>amethionina</i> (= <i>Starmera amethionina</i> var. <i>amethionina</i>)	<i>Opuntia</i> sp. <i>O. stricta</i> , <i>O. tomentosa</i>	Lachance <i>et al.</i> , 1988 Barker <i>et al.</i> , 1984
<i>P. amethionina</i> var. <i>pachycereana</i> (= <i>S. amethionina</i> var. <i>pachycereana</i>)	<i>Opuntia</i> sp.	Lachance <i>et al.</i> , 1988
<i>P. antillensis</i>	<i>Opuntia</i> sp.	Lachance <i>et al.</i> , 1988
<i>P. barkeri</i>	<i>Opuntia</i> sp.	Lachance <i>et al.</i> , 1988
<i>P. cactophila</i>	<i>O. phaeacantha</i> <i>Opuntia</i> sp. <i>O. streptacantha</i> , <i>O. stricta</i> , <i>O. tomentosa</i>	Ganter, 1988 Lachance <i>et al.</i> , 1988 Barker <i>et al.</i> , 1984
<i>P. deftensis</i>	Exudado de <i>P. tremuloides</i>	Lachance <i>et al.</i> , 1982
<i>P. deserticola</i>	<i>Opuntia</i> sp.	Lachance <i>et al.</i> , 1988
<i>P. fluxuum</i>	Exudado de <i>Q. rubra</i> Exudado de <i>Q. rubra</i> y <i>P. menziesii</i>	Bowles y Lachance, 1983 Lachance <i>et al.</i> , 1982
<i>P. heedii</i>	<i>Opuntia</i> sp.	Lachance <i>et al.</i> , 1988
<i>P. kluyveri</i> var. <i>cephalocereana</i>	<i>Opuntia</i> sp.	Lachance <i>et al.</i> , 1988
<i>P. kluyveri</i> var. <i>eremophila</i>	<i>Opuntia</i> sp.	Lachance <i>et al.</i> , 1988
<i>P. kluyveri</i> var. <i>kluyveri</i>	<i>Opuntia</i> sp.	Lachance <i>et al.</i> , 1988
<i>P. membranaefaciens</i> (= <i>P. membranifaciens</i>)	<i>Opuntia</i> sp. <i>O. stricta</i> Exudado de <i>Q. rubra</i> Exudado de <i>Q. rubra</i> , <i>P. menziesii</i> y <i>U. americana</i> Lesión de pino	Lachance <i>et al.</i> , 1988 Barker <i>et al.</i> , 1984 Bowles y Lachance, 1983 Lachance <i>et al.</i> , 1982 Shehata <i>et al.</i> , 1955
<i>P. nakasei</i>	<i>Opuntia</i> sp.	Lachance <i>et al.</i> , 1988
<i>P. norvegensis</i>	<i>Opuntia</i> sp.	Lachance <i>et al.</i> , 1988
<i>P. opuntiae</i> var. <i>opuntiae</i> (= <i>Phaffomyces opuntiae</i>)	<i>Opuntia</i> sp. <i>O. tomentosa</i>	Lachance <i>et al.</i> , 1988 Barker <i>et al.</i> , 1984
<i>P. opuntiae</i> var. <i>thermotolerans</i> (= <i>Pha. thermotolerans</i>)	<i>Opuntia</i> sp.	Lachance <i>et al.</i> , 1988
<i>P. pastoris</i>	Exudado de <i>Q. rubra</i> Exudado de <i>Q. rubra</i> , <i>U. americana</i> y <i>P. tremuloides</i>	Bowles y Lachance, 1983 Lachance <i>et al.</i> , 1982
<i>P. pinus</i> (= <i>P. pini</i>)	Exudado de <i>Q. rubra</i>	Bowles y Lachance, 1983 Lachance <i>et al.</i> , 1982
<i>P. pseudocactophila</i>	<i>Opuntia</i> sp.	Lachance <i>et al.</i> , 1988
<i>P. vini</i> (= <i>Debaryomyces carsonii</i>)	Exudado de <i>Q. rubra</i>	Bowles y Lachance, 1983 Lachance <i>et al.</i> , 1982

Tabla 2. Continuación.

Especie de levadura	Sustrato de aislamiento	Autores
<i>Rhodotorula fujisanensis</i>	<i>O. stricta</i>	Barker <i>et al.</i> , 1984
<i>Rh. glutinis</i>	Exudado de <i>Q. rubra</i>	Bowles y Lachance, 1983 Lachance <i>et al.</i> , 1982
<i>Rh. glutinis</i> var. <i>glutinis</i> (= <i>Cry. glutinis</i>)	<i>O. streptacantha</i>	Barker <i>et al.</i> , 1984
<i>Rh. glutinis</i> var. <i>rubescens</i> (= <i>Rhodospordium toruloides</i>)	Lesión de pino	Shehata <i>et al.</i> , 1955
<i>Rh. graminis</i>	Exudado de <i>Q. rubra</i>	Bowles y Lachance, 1983
<i>Rh. minuta</i> var. <i>minuta</i> , <i>Rh. minuta</i> var. <i>texensis</i> , <i>Rh. pallida</i> (= <i>Rh. minuta</i>)	<i>O. stricta</i> , <i>O. tomentosa</i> Exudado de <i>Q. rubra</i>	Barker <i>et al.</i> , 1984 Bowles y Lachance, 1983
<i>Rh. pilmane</i> (= <i>Rh. mucilaginosa</i>)	<i>O. stricta</i> , <i>O. tomentosa</i> Exudado de <i>Q. kellogii</i>	Barker <i>et al.</i> , 1984 Shehata <i>et al.</i> , 1955
<i>Saccharomyces dairensis</i>	Exudado de <i>Q. rubra</i>	Bowles y Lachance, 1983 Lachance <i>et al.</i> , 1982
<i>Sacch. delbruckii</i> , <i>Sacch. fermentati</i> , <i>Sacch. rosei</i> (= <i>Torulaspota delbruckii</i>)	Exudado de <i>Q. rubra</i> Exudado de pino	Bowles y Lachance, 1983 Lachance <i>et al.</i> , 1982 Shehata <i>et al.</i> , 1955
<i>Sporopachydermia quercum</i>	Exudado de <i>Q. rubra</i>	Bowles y Lachance, 1983 Lachance <i>et al.</i> , 1982
<i>Trichosporon capitatum</i> (= <i>Dipodascus capitatus</i>)	<i>O. stricta</i>	Barker <i>et al.</i> , 1984
<i>T. cutaneum</i>	Exudado de <i>Q. rubra</i>	Bowles y Lachance, 1983 Lachance <i>et al.</i> , 1982
<i>T. fermentans</i> (= <i>Geotrichum fermentans</i>)	Exudado de <i>Q. kellogii</i>	Shehata <i>et al.</i> , 1955
<i>T. variable</i> (= <i>Pichia burtonii</i>)	<i>O. stricta</i>	Barker <i>et al.</i> , 1984
<i>Torulopsis aëria</i> (= <i>Cryptococcus aërius</i>)	Exudado de pino	Shehata <i>et al.</i> , 1955

Levaduras asociadas con insectos

Los insectos son probablemente el principal vector en la distribución de levaduras en la naturaleza. Su frecuente asociación es indudablemente el resultado de la importancia nutricional de los microorganismos en el ciclo de vida de muchas especies de insectos (Phaff, 1966), estableciéndose fuertes relaciones mutualistas (Rosa *et al.*, 1994).

Los insectos vectores establecen una conexión para las comunidades de levaduras con los diferentes tipos de hábitats en los que se desarrollan, como son pudriciones de diferentes especies de cactus y exudados de árboles (Ganter, 1988).

Tal es el caso de los insectos cactófilos, *Drosophila serido*, la mariposilla *Sigalgaita* sp. y el escarabajo *Omolodes marseuli*, que distribuyen activamente a la levadura *Clavispora opuntiae* en los tallos necrosados y frutos del cacto *Pilosocereus arrabidae* (Rosa *et al.*, 1994). Otras plagas del nopal, como escarabajos barrenadores, seguramente inoculan levaduras en los tejidos de la planta al momento de hacer sus galerías, las cuales servirán de alimento a sus larvas. Los escarabajos son hábitats de levaduras que han sido escasamente estudiados y pueden contener miles de especies de levaduras desconocidas (Lachance, 2000).

OBJETIVOS

Con el fin de establecer las semejanzas existentes entre los tibicos y las secreciones gomosas de nopal se planteó la siguiente investigación, que tuvo como objetivos:

1. Conocer la microbiota de las secreciones gomosas del nopal.
2. Comparar dicha microbiota con la encontrada en los tibicos y en las pudriciones de *Opuntia* para determinar su posible afinidad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Procedencia de las muestras

Se colectaron 17 secreciones gomosas de cladodios y tallos de nopales, *Opuntia ficus-indica*, en una parcela localizada en San Francisco Tecoxpa, Milpa Alta, D.F (Mapa 1).

Seis de ellas estaban asociadas a daños en la planta causados por un gusano barrenador que parasitaba el cultivo, y 11 a un daño mecánico.

En la delegación Milpa Alta se practica la agricultura de temporal desde épocas remotas, y el cultivo del nopal, consumido como verdura o como fruta fresca (Bravo y Piña, 1979; Meyer y Mc Laughlin, 1981; Bautista, 1982), es la principal actividad agrícola de la región (Bautista, 1982), la que por ello se eligió como zona de muestreo.

Aislamiento de la micobiota

Se seleccionaron al azar 3 secreciones gomosas, dos formadas sobre lesiones causadas por gusano barrenador y una formada sobre lesión causada por daño mecánico, las cuales se hidrataron en agua corriente; una vez suavizadas se enjuagaron varias veces con agua destilada y se cortaron a la mitad. De cada una de las muestras, una de las mitades se desinfectó superficialmente con hipoclorito de sodio diluido (2:1) y la otra no. Se molió 1 g de cada una de las muestras (desinfectada o no) en 99 ml de una solución de peptona (0.1%) agar (0.02%). Se hicieron suspensiones seriadas, y a partir de las suspensiones 1:10³ hasta 1:10⁷ se sembraron alícuotas de 0.1 ml por el método de extensión en placa en varios medios de cultivo: ACP Difco (agar-cuenta en placa marca Difco); GELPA (glúcica-extracto de levadura-peptona-agar: glucosa 20 g, extracto de levadura 5 g, peptona 10 g, agar 20 g), acidificado a pH 3.7 con ácido clorhídrico

(Lachance *et al.*, 1988); PDA (papa-dextrosa-agar: se hizo una infusión con 300 g de papa pelada y cortada en cuadros en 1000 ml de agua, se filtró y se añadieron 20 g de glucosa y 20 g de agar, aforando a 1000 ml) acidificado con ácido clorhídrico a pH 3, y EMA (extracto de malta-agar: extracto de malta 20 g, peptona 1 g, glucosa 20 g, agar 20 g, agua 1000 ml). De las colonias de levaduras con morfología colonial diferente, se hicieron resiembras por el método de siembra en estrías múltiples en medios de GELPA diluido (glucosa 10 g, extracto de levadura 2.5 g, peptona 5 g, agar 20 g, agua 1000 ml), acidificado a pH 3.7, y en RBCA (Rosa de Bengala-cloranfenicol-agar: KH_2PO_4 0.5 g, K_2HPO_4 0.5 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 g, peptona 0.5 g, dextrosa 10 g, extracto de levadura 0.5 g, Rosa de Bengala 0.05 g, cloranfenicol 1 g, agar 20 g, agua 1000 ml), con la finalidad de obtener cultivos libres de bacterias. Los cultivos puros se mantuvieron en tubos inclinados de GELPA y en tubos con agua destilada estéril a una temperatura de 4°C para su posterior identificación. Las colonias de mohos, que correspondieron únicamente al género *Penicillium*, se resembraron en tubos inclinados de CELA (Czapek-extracto de levadura-agar: K_2HPO_4 1 g, Czapek concentrado 10 ml, extracto de levadura 5 g, sucrosa 30 g, agar 15 g, agua 1000 ml), y se mantuvieron también a una temperatura de 4°C para su posterior identificación.

Identificación de los aislamientos de levaduras

Para la identificación de levaduras se realizaron las pruebas señaladas en la metodología de van der Walt y Yarrow (1984) y Yarrow (1998), y las pruebas adicionales propuestas por Lachance *et al* (1988) (Tablas 3 y 4). Se siguieron las claves taxonómicas y se cotejaron las descripciones de cada una de las especies en los tratados de Kreger-van Rij (1984), Barnett *et al* (1990, 2000) y Kurtzman y Fell (1998).

Identificación de los aislamientos de *Penicillium*

Se realizó de acuerdo con la metodología y las claves taxonómicas propuestas por Pitt 1985 (Tabla 5).

Tabla 3. Características morfológicas, fisiológicas y bioquímicas consideradas para la identificación de las levaduras (van der Walt y Yarrow, 1984; Yarrow, 1998).

I. Características morfológicas	II. Características fisiológicas y bioquímicas
<p>A. Macromorfología o características culturales de los aislamientos</p> <p>1. Crecimiento en medio líquido GELP, formación de película o de anillo</p> <p>2. Crecimiento en medio sólido GELPA, desarrollo de colonia gigante para observar textura, color, superficie, elevación y margen</p> <p>B. Micromorfología</p> <p>1. Características de las células vegetativas</p> <p>a) morfología en medio sólido GELPA b) morfología en medio líquido GELP c) formación de pseudomicelio y micelio verdadero en placa de Dalmau en HMA (Difco), AA y PDA</p> <p>2. Características de la reproducción asexual o vegetativa en los medios GELPA, EMA, AML (Difco) y AML</p> <p>3. Características de la reproducción sexual</p> <p>a) Proceso de formación de ascas y ascosporas b) características de las ascas y ascosporas en GELPA, EMA, AML (Difco), AML, GWA, FWA y McClaryA</p>	<p>1. Utilización de compuestos de carbono</p> <p>a) fermentación de 6 carbohidratos b) asimilación de 42 compuestos de carbono</p> <p>2. Asimilación de compuestos de nitrógeno</p> <p>a) nitrato de potasio b) nitrito de sodio c) cadaverina d) etilamina e) lisina f) creatina g) creatinina h) D-glucosamina</p> <p>3. Requerimientos de vitaminas para el crecimiento</p> <p>a) crecimiento en medio libre de vitaminas</p> <p>4. Resistencia al antibiótico cicloheximida (100 y 1000 ppm)</p> <p>5. Crecimiento en medios de alta presión osmótica</p> <p>a) tolerancia a 50% y 60% de glucosa b) 10%NaCl/5% glucosa</p> <p>6. Crecimiento a 37°C y 40°C en GELP</p> <p>7. Reacción al colorante azul B de Diazonio (DBB)</p> <p>8. Producción de almidón extracelular</p> <p>9. Hidrólisis de urea</p> <p>10. Liquefacción de gelatina</p>

Abreviaturas:

GELPA (glucosa-extracto de levadura-peptona-agar): glucosa 20 g, extracto de levadura 5 g, peptona 10 g, agar 20 g, agua 1000 ml; **GELP(glucosa-extracto de levadura-peptona):** glucosa 20 g, extracto de levadura 5g, peptona 10 g; **AML (Difco) (agar para morfología de levaduras marca Difco); AML (agar para morfología de levaduras):** extracto de malta 3 g, extracto de levadura 3 g, peptona 5 g, glucosa 10 g, agar 20 g, agua 1000 ml; **AA (arroz-agar):** infusión con 20g de arroz en 1000 ml de agua, filtrada, aforada a 1000 ml, más 20 g de agar; **PDA (papa-dextrosa-agar):** infusión con 300 g de papa pelada y cortada en cuadros en 1000 ml de agua, filtrada, más 20 g de glucosa y 20 g de agar, aforada a 1000 ml; **GWA (Gorodkova-agar):** glucosa 1g, peptona 10 g, cloruro de sodio 5 g, agar 20 g, agua 1000 ml; **FWA (Fowell-agar):** acetato de sodio 5g, agar 20 g, agua 1000 ml; **EMA (extracto de malta-agar):** extracto de malta 20 g, peptona 1 g, glucosa 20 g, agar 20 g, agua 1000 ml; **HMA (Difco) (harina de maíz-agar marca Difco):** harina de maíz Difco 20 g, peptona 20 g, dextrosa 20 g, agar 20 g, agua 1000 ml, **McClaryA (McClary-agar):** glucosa 1 g, cloruro de potasio 1.8 g, acetato de sodio 8.2 g, extracto de levadura 2.5 g, agar 15 g, agua 1000 ml

Tabla 4. Metodología propuesta por Lachance *et al.* (1988) para la identificación de levaduras aisladas de pudriciones de cactáceas.

1. Realizar las pruebas señaladas en la metodología de van der Walt y Yarrow (1984) y Yarrow (1998).
 2. Realizar las siguientes pruebas adicionales:
 - a) Asimilación de acetato de etilo: se extienden 0.25 ml de acetato de etilo en una placa de base nitrogenada para levadura (Difco)-agar solidificado, un día antes de la inoculación, incubar por 3 días a 25°C.
 - b) Crecimiento en medio sólido de agar para morfología de levaduras (AML) adicionado con digitonina 8mg/L (Sigma) a 25°C.
 - c) Hidrólisis de Tween-80.
 - d) Asimilación en medio líquido de metanol, hexadecano y N-acetil-D-glucosamina.
-

Tabla 5. Resumen de la metodología propuesta por Pitt (1985) para la identificación de especies del género *Penicillium*.

1. Colocar una suspensión de conidios en una solución semisólida de detergente-agar para uniformar su dispersión.
2. Inocular cajas de Petri con los medios Czapek-extracto de levadura-agar (CELA), extracto de malta-agar (EMA) y 25% de glicerol-nitrato-agar (G25N). Las cajas de EMA y CELA que se incuban a 25°C son inoculadas por un solo cultivo en tres puntos, equidistantes uno del otro, del centro y de la orilla de la caja. Las cajas de los otros medios son inoculadas con dos puntos por cultivo (Fig. 1).
3. Incubar por 7 días: CELA, EMA y G25N a 25°C y CELA también a 5°C y 37°C.
4. Después de 7 días de incubación medir los diámetros de las colonias y registrar los rangos de crecimiento.
5. Examen de los cultivos: textura del micelio y de la colonia, grado de esporulación, agregación de los conidióforos, presencia de exudado, color de los conidios, pigmentación del micelio y del exudado, pigmento difundido en el medio de cultivo, coloración del reverso de la placa, ondulaciones o rugosidades en el medio.
6. Características microscópicas: estructura de los penicillios (Fig. 2); forma y longitud de filídes, métulas, ramas y ramillas; forma y tamaño de los conidios, textura de las paredes de los elementos del conidióforo y de los conidios, presencia de ascocarpos y ascosporas.
7. Seguir las claves taxonómicas y cotejar con las descripciones de las especies.

Abreviaturas:

Czapek concentrado: NaNO₃ 30 g, KCL 5 g, MgSO₄.7H₂O 5 g, FeSO₄.7H₂O 0.1 g, agua 100 ml; **CELA** (Czapek-extracto de levadura-agar): K₂HPO₄ 1.0 g, Czapek concentrado 10 ml, extracto de levadura 5 g, sucrosa 30 g, agar 15 g, agua 1000 ml; **EMA** (Extracto de malta-agar): extracto de malta 20 g, peptona 1.0 g, glucosa 20 g, agar 20g, agua 1000 ml; **G25N** (25% de glicerol-nitrato-agar): K₂HPO₄ 0.75 g, Czapek concentrado 7.5 ml, extracto de levadura 3.7 g, glicerol 250 g, agar 12 g, agua 750 ml.

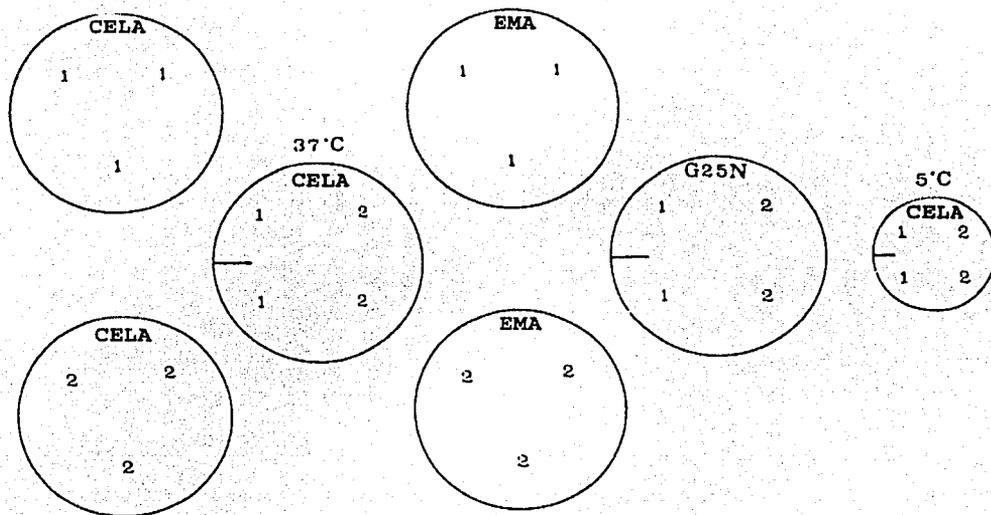


Fig. 1. Esquema del régimen utilizado para inocular y cultivar los aislamientos del género *Penicillium* en los medios de cultivo estandarizados.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

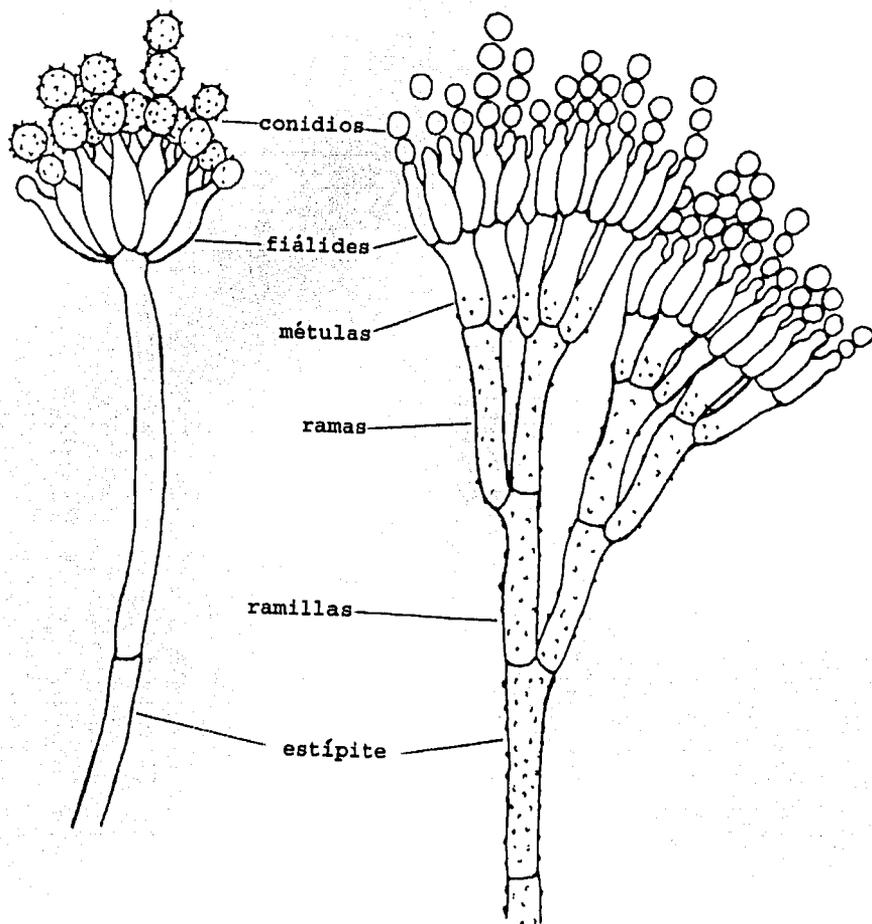


Fig. 2. Penicilos, del más simple (monovercillado) al más complejo (terverticilado) encontrados normalmente en especies del género *Penicillium*.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De la secreción gomosa de nopal formada sobre una lesión causada por daño mecánico (3b) no se aisló ningún microorganismo, quizá porque el principal vector de la micobiota sea el gusano barrenador. De las dos secreciones gomosas de nopal formadas sobre lesiones causadas por gusano barrenador (1a y 2a) se aislaron 30 microorganismos, de los cuales 24 correspondieron a diversas especies de levaduras y 6 a especies del género *Penicillium*. La micobiota interna de las secreciones gomosas se aisló después de desinfectarlas superficialmente, obteniéndose 332 ufc/g, y 16 aislamientos puros de las especies: *Candida lambica* (4), *Clavispora opuntiae* (7), *Rhodotorula mucilaginosa* (1), *Pseudozyma fusiformata* (1), *P. aurantiogriseum* (1), *P. crustosum* (1), y *P. griseofulvum* (1). De las secreciones no desinfectadas superficialmente se aisló una micobiota tanto externa como interna; se obtuvieron 239 ufc/g, con 14 aislamientos puros que correspondieron a: *Candida famata* var. *famata* (1), *C. guilliermondii* (1), *C. lambica* (3), *Cl. opuntiae* (5), *Rh. mucilaginosa* (1), y *Penicillium* spp. (3). *Rhodotorula mucilaginosa*, *C. lambica*, *Cl. opuntiae* y las especies de *Penicillium* fueron aisladas del exterior e interior de las secreciones gomosas, *C. famata* var. *famata* y *C. guilliermondii* de la superficie, y *P. fusiformata* del interior. La carga microbiana fue baja pues, básicamente, los aislamientos se obtuvieron de las diluciones 10^3 , 10^4 y 10^5 . Los medios de cultivo en los que se obtuvo el mayor número de aislamientos fueron ACP pH 7 y GELPA pH 3.7; en PDA con pH 3 no creció ninguna colonia, mostrando que este grado de acidez inhibe el crecimiento de microorganismos, no así el pH 3.7 (Tablas 6 y 7).

Tabla 6. Micobiota aislada de secreciones gomosas de nopal.

Micobiota externa e interna aislada de secreciones gomosas no desinfectadas	Micobiota interna aislada de secreciones gomosas desinfectadas
<i>Candida famata</i> var. <i>famata</i> (1) <i>Candida guilliermondii</i> (1) <i>Candida lambica</i> (3) <i>Clavispora opuntiae</i> (5) <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> (1) <i>Penicillium</i> spp. (3)	<i>Candida lambica</i> (4) <i>Clavispora opuntiae</i> (7) <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> (1) <i>Pseudozyma fusiformata</i> (1) <i>Penicillium aurantiogriseum</i> (1) <i>P. crustosum</i> (1) <i>P. griseofulvum</i> (1)
239 ufc/g y 14 aislamientos	332 ufc/g y 16 aislamientos

Levaduras ascomicétinas

Candida guilliermondii (anamorfo de *Pichia guilliermondii*) corresponde al 4% del total de los aislamientos, formando parte de la micobiota externa de la secreción gomosa de nopal (Tablas 6 y 7). Su capacidad de asimilar galactosa y xilosa, que son algunos de los componentes del mucílago de *Opuntia ficus-indica*, le permite desarrollarse en este sustrato. Aunque ha sido aislada de tubos por Rubio *et al.* (1993), y de frutos y tallos necrosados del cacto columnar *Pilosocereus arrabidae* (Rosa *et al.*, 1992, 1994; Morais *et al.*, 1995), *C. guilliermondii* no es autóctona de estos hábitats ni guarda una asociación específica con las secreciones gomosas de nopal o con el gusano barrenador, sino más bien es cosmopolita, ampliamente distribuida en diversos sustratos. Aparece esporádicamente en tejidos vegetales podridos y en frutos fermentados (Meyer *et al.*, 1984, citado por Lachance *et al.*, 1988). En su estado sexual, *P. guilliermondii*, ha sido aislada de árboles, suelo y diferentes especies de insectos (Kurtzman y Fell, 1998; Barnett *et al.*, 2000), incluyendo las especies cactófilas *Drosophila serido* y larvas de la mariposilla *Sigalgaita* sp. (Rosa *et al.*, 1994).

Candida lambica (anamorfo de *Pichia fermentans*) se obtuvo en 29% del total de los aislamientos: 4 aislamientos de secreción gomosa desinfectada y 3 de secreción no desinfectada, es decir, se halló dentro y fuera de la secreción (Tablas 6 y 7). Ha sido aislada de tibicos por Pidoux (1989) y de secreciones gomosas de *Opuntia ficus-indica* por Lappe y Ulloa (1990); Lachance *et al.* (1988) la reportan esporádicamente de necrosis de cactus. Se ha aislado de muy diversos sustratos por lo que es una especie cosmopolita, politrófica, que asimila una gran variedad de fuentes de carbono, incluyendo xilosa, uno de los polisacáridos que constituyen el mucílago de *Opuntia ficus-indica* (Kurtzman y Fell, 1998; Barnett *et al.*, 2000).

Candida famata var. *famata*, al igual que *C. guilliermondii*, se obtuvo del exterior de la secreción gomosa correspondiendo al 4% del total de los aislamientos (Tablas 6 y 7). Es una especie que asimila galactosa y xilosa, lo que le permite desarrollarse sobre el mucílago de *O. ficus-indica*. Ha sido aislada de tibicos (Armijo *et al.*, 1991) y de la mariposilla *Sigelgaita* sp. asociada al cacto columnar *P. arrabidae* (Rosa *et al.*, 1992). En su estado sexual, *Debaryomyces hansenii*, ha sido reportada de tallos necrosados de varias especies de *Opuntia* (Barker *et al.*, 1984). *Candida famata* var. *famata* es una especie homotética, xero y osmotolerante (Lachance *et al.*, 1988), politrófica (Bowles y Lachance, 1983), características que le dan una gran versatilidad para ocupar diferentes hábitats. No es una levadura cactófila, sino generalista distribuida por todo el mundo (Kurtzman y Fell, 1998; Barnett *et al.*, 2000), por lo cual se cree no tenga una asociación específica con las secreciones gomosas o con el gusano barrenador del nopal.

Clavispora opuntiae se aisló a partir de secreciones gomosas desinfectadas y no desinfectadas, es decir de dentro y fuera de dichas secreciones, en un 50% (Tablas 6 y 7). Es una levadura que no se ha encontrado en tibicos ni en secreciones gomosas de

nopal. Se ha aislado de necrosis de diversas especies de *Opuntia* y de cactus columnares (Phaff *et al.*, 1986; Lachance *et al.*, 1988; Rosa *et al.*, 1994; Kurtzman y Fell, 1998; Barnett *et al.*, 2000). Se encuentra asociada principalmente con insectos cactófilos como *Drosophila serido*, la mariposilla *Sigelgaita* sp., el escarabajo *Omolodes marseuli* (Rosa *et al.*, 1994; Morais *et al.*, 1994), la mariposa del nopal *Cactoblastis cactorum* (Starmer *et al.*, 1988, citado por Rosa *et al.*, 1992), y otros insectos no cactófilos, como *D. fasciola* de bosques tropicales húmedos (Morais *et al.*, 1995). Ha sido aislada también de exudados de roble (*Quercus emoryi*) creciendo cerca de un cacto en Arizona, y de frutos de cactus en estado de descomposición (Kurtzman y Fell, 1998; Barnett *et al.*, 2000).

Clavispora opuntiae es una levadura confinada a especies de *Opuntia* y otros cactus columnares, más por su afinidad con insectos cactófilos vectores (larvas de *Sigelgaita* sp., *Drosophila* spp.) que por tener una preferencia por la planta hospedera (Starmer *et al.*, 1998 citado por Rosa *et al.*, 1992). Por el número de aislamientos obtenidos y por su afinidad con insectos cactófilos, quizá *Cl. opuntiae* guarde una relación directa con el gusano barrenador del nopal, lo que podría confirmarse con posteriores estudios en los que se aísle la microbiota del escarabajo barrenador del nopal.

Levaduras basidiomicétinas

Los 2 aislamientos de *Rhodotorula mucilaginosa* obtenidos de la parte interna y externa de las secreciones gomosas corresponden al 8% del total de los aislamientos (Tablas 6 y 7). *Rh. mucilaginosa* no es una especie cactófila, sino politrófica y cosmopolita (Bowles y Lachance, 1983; Lachance *et al.*, 1988), ampliamente distribuida por todo el mundo en ambientes terrestres, acuáticos y marinos, en una gran variedad de sustratos (Kurtzman y

Fell, 1998). Por lo anterior se deduce que está presente en secreciones gomosas de nopal como una levadura transitoria. Anteriormente no se había encontrado en estas secreciones de nopal pero sí en tallos podridos de *Opuntia stricta* y *O. tomentosa* (Barker *et al.*, 1984, Tabla 2) pues asimila galactosa, xilosa y ácido galacturónico (Tabla 9), que son algunos de los carbohidratos que componen el mucílago de diferentes especies de *Opuntia*. En 1988, Lachance *et al.* la aislaron de frutos de *Opuntia* sp. con escasa frecuencia, por lo que se cree que no tenga un papel importante en la ecología de las pudriciones de cactus, más que el de una levadura degradadora por sus propiedades pectinolíticas. También ha sido aislada de pudriciones del cacto *Pilosocereus arrabidae* y se ha encontrado asociada a insectos que se desarrollan en esta planta, como: *Drosophila serido* y *Sigalgaita* sp. (Rosa *et al.*, 1992, 1994; Morais *et al.*, 1994). Ha sido aislada de tибicos por Rubio *et al.* (1993) y de exudado de *Quercus kelloggii* (Shehata *et al.*, 1955) (Tabla 2).

La cepa "L" correspondiente a la especie *Pseudozyma fusiformata* presentó dificultades para su identificación debido a la variabilidad en la asimilación del nitrato. Siguiendo las claves taxonómicas propuestas por Kurtzman y Fell, (1998) y con la asimilación del nitrato negativa se llegó a la especie *Fellomyces penicillatus*, aunque con algunas diferencias en las características fisiológicas y bioquímicas (Tabla 10).

Con el fin de corroborar la identidad de esta cepa la Dra. Patricia Lappe y el Biól. Manuel Rodríguez realizaron la secuenciación del dominio D1-D2 del gen 26S ADNR que se comparó con el banco de datos del Gen Bank, determinándose una similitud del 99% con la especie *Pseudozyma fusiformata*. Sin embargo, con esta especie también se presentaron diferencias en algunas características fisiológicas y bioquímicas (Tabla 10).

Aunque *P. fusiformata* ha sido aislada de coliflor y hojas de cebada (Kurtzman y Fell, 1998; Barnett *et al.*, 2000), puede estar relacionada directamente con el gusano barrenador por encontrarse en el interior de la secreción gomosa (Tablas 6 y 7) y por la asociación de otra de sus especies, *P. aphidis*, con insectos (Kurtzman y Fell, 1998; Barnett *et al.*, 2000).

Pseudozyma fusiformata como otras de sus especies, ha sido aislada de plantas, en este caso es capaz de asimilar xilosa y ácido galacturónico polisacáridos presentes en el mucílago de *Opuntia ficus-indica* permitiéndole colonizar este sustrato.

Especies de *Penicillium*.

Del género *Penicillium* se obtuvieron seis aislamientos que correspondieron a: *P. crustosum* (1), *P. aurantiogriseum* (1), *P. griseofulvum* (1) y *Penicillium* spp. (3) obtenidos de la parte interna y externa de las secreciones gomosas de nopal, representando 20% del total de la microbiota aislada (Tablas 6 y 7). Estas especies de mohos no son autóctonas de cactus; *P. crustosum* es un biodegradador común que se encuentra ampliamente distribuido en todas partes, raramente reportado como aislado de suelo, se ha encontrado como patógeno de frutos pomáceos, y ha sido aislado de cereales y de forraje para animales. *P. aurantiogriseum* es un hongo cosmopolita, también raramente aislado de suelo; se encuentra en granos secos y maduros, especialmente de cereales, y en otros alimentos, y *P. griseofulvum* es también una especie cosmopolita, degradadora de vegetación, presente en semillas, cereales y alimentos (Pitt, 1979,1985). Los otros tres aislamientos de *Penicillium* no pudieron identificarse a nivel de especie debido a marcadas irregularidades en las características culturales y microscópicas, que impidieron seguir adecuadamente las claves taxonómicas de Pitt (1985).

Tabla 7. Recuento total de microorganismos (ufc/g) aislados de las secreciones gomosas de nopal e identificados.

Muestra	Tratamiento	Medio de aislamiento	Diluciones	ufc/g	Cepas aisladas	Especies identificadas
1a	nd	PDA pH 3	$10^3, 10^5, 10^7$	0	0	0
1a	nd	ACP	10^3	195	9	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> (1) <i>Candida guilliermondii</i> (1), <i>Candida lambica</i> (2), <i>Clavispora opuntiae</i> (3), <i>Penicillium spp</i> (2)
			10^5	15	2	<i>Penicillium spp</i> (1) <i>Candida famata</i> var. <i>famata</i> (1)
			10^7	0	0	0
1a	d	PDA pH 3	$10^3, 10^5, 10^7$	0	0	0
1a	d	ACP	10^3	4	1	<i>Rh. mucilaginosa</i> (1)
			10^5	4	0	
			10^7	1	0	
2a	nd	GELPA pH 3.7	10^3	4	3	<i>C. lambica</i> (1), <i>Cl. opuntiae</i> (2)
			10^4	1	0	
			10^5	1	0	
2a	nd	ACP	10^3	17	contaminadas	0
			10^4	3		
			10^5	2		
2a	d	GELPA pH 3.7	10^3	157	5	<i>C. lambica</i> (2) <i>Pseudozyma fusiformata</i> (1) <i>Cl. opuntiae</i> (2)
			10^4	11	4	<i>C. lambica</i> (1) <i>Cl. opuntiae</i> (3)
			10^5	3	6	<i>C. lambica</i> (1) <i>Cl. opuntiae</i> (2) <i>Penicillium crustosum</i> (1) <i>P. aurantiogriseum</i> (1) <i>P. griseofulvum</i> (1)
2a	d	ACP	10^3	126	contaminadas	0
			10^4	17		
			10^5	9		
3b	nd	GELPA pH3.7, ACP y EMA	$10^3, 10^4, 10^5$	0	0	0
3b	d	GELPA pH3.7, ACP y EMA	$10^3, 10^4, 10^5$	0	0	0

Abreviaturas:

a: secreciones gomosas formadas sobre lesiones causadas por gusano barrenador; b: secreciones gomosas formadas sobre lesiones causadas por daño mecánico; nd: no desinfectada superficialmente; d: desinfectada superficialmente con hipoclorito (3 partes de agua/1 de hipoclorito); PDA: papa-dextrosa-agar; ACP: agar-cuenta en placa; GELPA: glucosa-extracto de levadura-peptona-agar, EMA: extracto de malta-agar.

Tabla 8. Características macro y micromorfológicas de las especies de levaduras aisladas de las secreciones gomosas de nopal.

	<i>Candida famata</i> var. <i>famata</i>	<i>Candida guilliermondii</i>	<i>Candida lambica</i>
A. Macromorfología o características de los cultivos:			
1. Crecimiento en medio líquido (GELP)	Sedimento presente y película ausente	Sedimento abundante, anillo ascendente, película ausente	Sedimento abundante, película, anillo ascendente
2. Crecimiento en medio sólido (GELPA)	Colonia de 3.15 cm de diámetro a los 30 días, umbonada, opaca, con surcos discretos, butirosa, con borde continuo, color crema (fig. 13)	Colonia de 3.25 cm de diámetro a los 30 días, plana, opaca, con sectores radiales discretos, butirosa, con borde continuo, blanca (fig. 16)	Colonia de 3.85 cm de diámetro a los 30 días, ligeramente umbonada, con sectores radiales lisos, brillantes, con borde continuo y rugoso, opaca con borde lobado, butirosa, color crema-amarillento (fig. 19-21)
B. Micromorfología			
1. Características de las células vegetativas			
a. Morfología en medio sólido (GELPA)	Células esféricas, de 1.6-6.4 μm , aisladas o formando cadenas cortas (fig. 14)	Células esféricas, de 1.6-8 μm de diámetro, y ovaladas a elongadas, de 1.5-4.8 X 2.0-15.0 μm , aisladas, en pares o formando cadenas cortas (fig. 17)	Células esféricas, de 1.6-9.6 μm de diámetro, y ovaladas a elipsoidales, de 3.2-6.4 X 4.8-12.8 μm , aisladas, en pequeñas agrupaciones o formando cadenas cortas (fig. 22)
b. Formación de pseudomicelio y micelio verdadero en placa de Dalmau (HMA)	Seudomicelio y micelio verdadero ausentes (fig. 15)	Seudomicelio bien desarrollado en anaerobiosis, constituido por pseudohifas ramificadas que portan cadenas de blastosporas (fig. 18)	Seudomicelio bien desarrollado en anaerobiosis, constituido por pseudohifas ramificadas que portan cadenas de blastosporas (fig. 23)
2. Características de la reproducción asexual o vegetativa (GELPA)	Gemación multilateral (fig. 14)	Gemación multilateral (fig. 17)	Gemación multilateral (fig. 22)
3. Características de la reproducción sexual (GELPA)			
a. Proceso de formación de ascas	Ausentes	Ausentes	Ausentes
b. Medios de esporulación			
c. Características de ascas y ascosporas			

Tabla 8. Continuación.

	<i>Clavispora opuntiae</i>	<i>Rhodotorula mucilaginoso</i>	<i>Pseudozyma fusiformata</i>
<p>A. Macromorfología o características de los cultivos</p> <p>1. Crecimiento en medio líquido (GELP)</p> <p>2. Crecimiento en medio sólido (GELPA)</p>	<p>Película gruesa y abundante</p> <p>Colonia de 3.7 cm de diámetro a los 30 días, umbonada, lisa, brillante, en la periferia rugosa, opaca, surcada, sectorizada, mucoide, con borde continuo, de color crema y crema-amarillento hacia la periferia (fig. 24)</p>	<p>Sedimento moderado, película y anillo ausentes</p> <p>Colonia de 3 cm de diámetro a los 30 días, umbonada, opaca, rugosa, granulosa en el centro, mucoide, con borde entero, de color coral intenso (fig. 28-29)</p>	<p>Película, anillo ascendente</p> <p>Colonia de 3.5 cm de diámetro a los 30 días, umbonada, rugosa, convoluta, opaca, mucoide, con margen continuo y discontinuo, de color crema-amarillento (fig. 32)</p>
<p>B. Micromorfología</p> <p>1. Características de las células vegetativas</p> <p>a. Morfología en medio sólido (GELPA)</p> <p>b. Formación de pseudomicelio y micelio verdadero en placa de Dalmau (HMA)</p> <p>2. Características de la reproducción asexual o vegetativa (GELPA)</p> <p>3. Características de la reproducción sexual (GELPA)</p> <p>a. Proceso de formación de ascas</p> <p>b. Medios de esporulación</p> <p>c. Características de ascas y ascosporas</p>	<p>Células esféricas, de 1.6 a 8 μm de diámetro u ovaladas a elongadas de 1.6-4.8 X 3.2-11.2 μm, aisladas, en pares, o formando cortas cadenas (fig. 25-26)</p> <p>Seudomicelio bien desarrollado en aerobiosis y anaerobiosis, constituido por pseudohifas ramificadas que portan cadenas de blastosporas (fig. 27)</p> <p>Gemación multilateral (fig. 25-26)</p> <p>Ausentes</p>	<p>Células esféricas a ovaladas, de 2.4-4.8 X 4.8-8 μm, aisladas, en pares, o formando pequeñas agrupaciones (fig. 30)</p> <p>Seudomicelio y micelio verdadero ausentes (fig. 31)</p> <p>Gemación multilateral (fig. 30)</p> <p>Ausentes</p>	<p>Células de 1.6-3.2 X 3.2-8 μm, ovaladas, obipiriformes, apiculadas a elongadas, aisladas, en agrupaciones o formando cortas cadenas, propagándose por la formación de células blásticas (conidios) en la punta de denticulos (fig. 33-35)</p> <p>Micelio verdadero con septos bien definidos (fig. 36-37)</p> <p>Gemación polar (fig. 33-35)</p> <p>Ausentes</p>

Tabla 9. Características morfológicas, fisiológicas y bioquímicas de las especies de levaduras aisladas de secreciones gomosas de nopal.

	<i>Candida famata</i> var. <i>famata</i>	<i>Candida</i> <i>quilliermondii</i>	<i>Candida</i> <i>lambica</i>	<i>Clavispora</i> <i>opuntiae</i>	<i>Rhodotorula</i> <i>mucilaginoso</i>	<i>Pseudozyma</i> <i>fusiformata</i>
A. Utilización de compuestos de carbono						
Fermentación						
Glucosa	-	+	+	+	-	-
Galactosa	-	+	-	+	-	-
Sacarosa	-	+	-	+	-	-
Maltosa	-	-	-	+	-	-
Lactosa	-	-	-	-	-	-
Rafinosa	-	-	-	-	-	-
Asimilación						
Glucosa	d	+	+	+	+	+
Galactosa	+	+	-	+	+	d
L-Sorbosa	-	+	-	+	-	d
Sacarosa	+	+	-	+	+	+
Maltosa	+	+	-	+	+	+
Celobiosa	+	+	-	+	+	d
Trehalosa	+	+	-	+	+	+
Lactosa	-	-	-	-	-	-
Melibiosa	-	+	-	-	-	-
Rafinosa	+	+	-	+	+	+
Melezitosa	+	+	-	+	+	+
Inulina	-	d	-	-	-	d
Almidón soluble	-	-	-	-	-	d
D-Xilosa	+	d	+	+	+	+
L-Arabinosa	+	+	-	+	+	+
D-Arabinosa	+	+	-	+	+	+
D-Ribosa	+	d	-	+	+	+
L-Ramnosa	-	-	-	-	-	-
D-Glucosamina	+	+	+	+	+	+
Etanol	+	+	-	+	+	+
Glicerol	-	+	+	+	+	+
Eritritol	+	+	-	+	+	+
Ribitol	d	+	-	+	+	+
Galactitol	+	+	-	+	+	+
Xilitol	-	-	-	-	-	+
D-Manitol	+	+	-	+	-	+
D-Glucitol	-	+	-	+	-	-
α -metil-D-glucosido	-	+	-	+	+	+
Salicina	-	+	-	+	+	d
D-Gluconato	+	+	-	+	+	d
DL-Lactato	-	+	+	+	+	d
Succinato	+	+	-	+	+	+
Citrato	-	+	-	+	+	+
2-ceto-D-gluconato	+	+	-	+	-	-
5-ceto-D-gluconato	-	-	-	-	-	-
Gluconofactona	-	-	-	-	-	+
D-Glucuronato	-	-	-	-	-	d
Inositol	-	-	-	-	-	+

Tabla 9. Continuación.

	<i>Candida famata</i> var. <i>famata</i>	<i>Candida</i> <i>guilliermondii</i>	<i>Candida</i> <i>lambica</i>	<i>Clavispora</i> <i>opuntiae</i>	<i>Rhodotorula</i> <i>mucliginosa</i>	<i>Pseudozyma</i> <i>fusiformata</i>
B. Utilización de compuestos de nitrógeno						
Nitrato de potasio	-	-	-	-	-	d, -, v
Nitrito de sodio		-		-d		-
Etilamina						+
Lisina		-		-d		-
Cadaverina				+		-
Creatina						-
Creatinina						-
D-Glucosamina N						-
C. Utilización de vitaminas						
Crecimiento en medio libre de vitaminas	-	-	-	-	-	+
D. Crecimiento en medios de alta presión osmótica						
50% de Glucosa						-
60% de Glucosa						-
E. Características adicionales						
Crecimiento a 37°C	-	+,-,d	v	+,-,d	-	-
Crecimiento a 40°C				-d		-
0.01% Cicloheximida						-
0.1% Cicloheximida						-
10% NaCl/5% glucosa	+	+	+	+	+	-
Formación de Almidón	-	-	-	-	-	-
Hidrólisis de Urea				+		+
DBB	-	-	-	-	+	+
Liquefacción de gelatina						+
Arbutina				+		+
Micelio verdadero	-	-	-	+	-	+
Seudomicelio	-	+	+	+	+	-
Película				+,-,d	+	+
Anillo	-	+	+	+	+	+
Flóculos				+		+
F. Pruebas adicionales para levaduras aisladas de cactáceas						
Metanol		-		-		-
Hexadecano	+			-d		-
N-acetil-D-Glucosamina		+	+	+		+
Tween 80-agar				+		
Digitonina-Agar para Morfología de levaduras				+		
AEBNLA				+		

Abreviaturas:

DBB: tinción de pared celular con azul B de diazonio, AEBNLA: acetato de etilo-base nitrogenada para levaduras (Difco)-agar, Código de respuesta a las pruebas: positivo (+), negativo (-), débil (d), variable (v), positivo tardío (+t).

Tabla 10. Principales diferencias en algunas de las características morfológicas, fisiológicas y bioquímicas observadas en la (cepa L) con respecto a las diagnosis para las especies *Fellomyces penicillatus* y *Pseudozyma fusiformata* presentadas en las monografías de Kurtzman y Fell (1998) y Barnett et al. (2000).

	Cepa "L"	<i>Fellomyces penicillatus</i>		<i>Pseudozyma fusiformata</i>	
		Kurtzman	Barnett	Kurtzman	Barnett
Galactosa	d, t	+		-	-
Lactosa	-	+	+, d	-	-
Inulina	d, t	-	-	-	-
Almidón soluble	d	+	+, -	-	-
L-ramnosa	-	+	+	-	-
Etanol	+, t	-	-	+	+
Galactitol	-	t	+, d	-	-
D-glucitol	-	+	+, d	+	+
D-glucosamina	-, d, t	+	+, d	v	d
α -metil-D-glucósido	+, t	d	+, -	+	+, d
2-ceto-D-gluconato	-	+	+, d	+	+, d
5-ceto-D-gluconato	-	+	?	?	d
D-glucuronato	d, t	?	+	+	+
DL-lactato	d, t	v		t	+
Nitrato	-	-	-	+	+
Nitrito	-	-	-	+	+
Etilamina	+	-	-	?	+
Lisina	-	?	+	?	+
Cadaverina	-	?		?	+
ND-glucosamina	-	?	+, d	?	+
0.01% cicloheximida	-	?	+	?	-
Crecimiento en medio libre de vitaminas	+	-	-	+	+
Crecimiento a 30°C	?	+		t	+
Micelio verdadero	+	+	+	+	+
Margen de la colonia	entero y discontinuo			entero	?
Apariencia de la colonia	umbonada, rugosa, convoluta			lisa a arrugada	?
Textura	mucoide			butirosa	butirosa

CONCLUSIONES

De acuerdo a la discusión anterior, se puede concluir que:

1. Las secreciones gomosas de nopal, las pudriciones de cactáceas, los tiburones y los insectos son hábitats y nichos ecológicos para levaduras totalmente diferentes entre sí.
2. Aunque *C. famata*, *C. guilliermondii*, *C. lambica* y *Rh. mucilaginoso* han sido aisladas anteriormente de tiburones, así como *C. lambica* de secreciones gomosas de nopal, estas especies de levaduras no son autóctonas de estos hábitats, sino aloctonas, es decir generalistas y politróficas, lo que les permite colonizar diversos hábitats.
3. Insectos vectores asociados con diferentes especies de *Opuntia* y cactus columnares son los que introducen a las levaduras en los exudados o pudriciones de la planta hospedera, estableciendo una relación mutualista. *Clavispora opuntiae* y *Pseudozyma fusiformata* pueden estar estrechamente relacionadas con el gusano barrenador del nopal.
4. Las pudriciones de cactus y los exudados de árboles son nichos de especiación para levaduras debido a su composición química tóxica, en los que se desarrollan especies oligotróficas, con un espectro nutricional estrecho, llegando a ser autóctonas de estos hábitats.
5. Para poder determinar si los tiburones y las secreciones gomosas de nopal son nichos de especiación para levaduras se requiere realizar más aislamientos para conocer si hay especies autóctonas de estos hábitats.

6. Se requieren de más estudios en los que se determine la microbiota asociada al escarabajo barrenador del nopal, para poder establecer su relación con las especies aisladas en este trabajo.



Figs. 3-5. Nopalera localizada en San Francisco Tecoxpa, Milpa Alta, México, D.F. **Figs. 6-8.** Secreciones gomosas endurecidas formadas sobre cladodio de nopal.

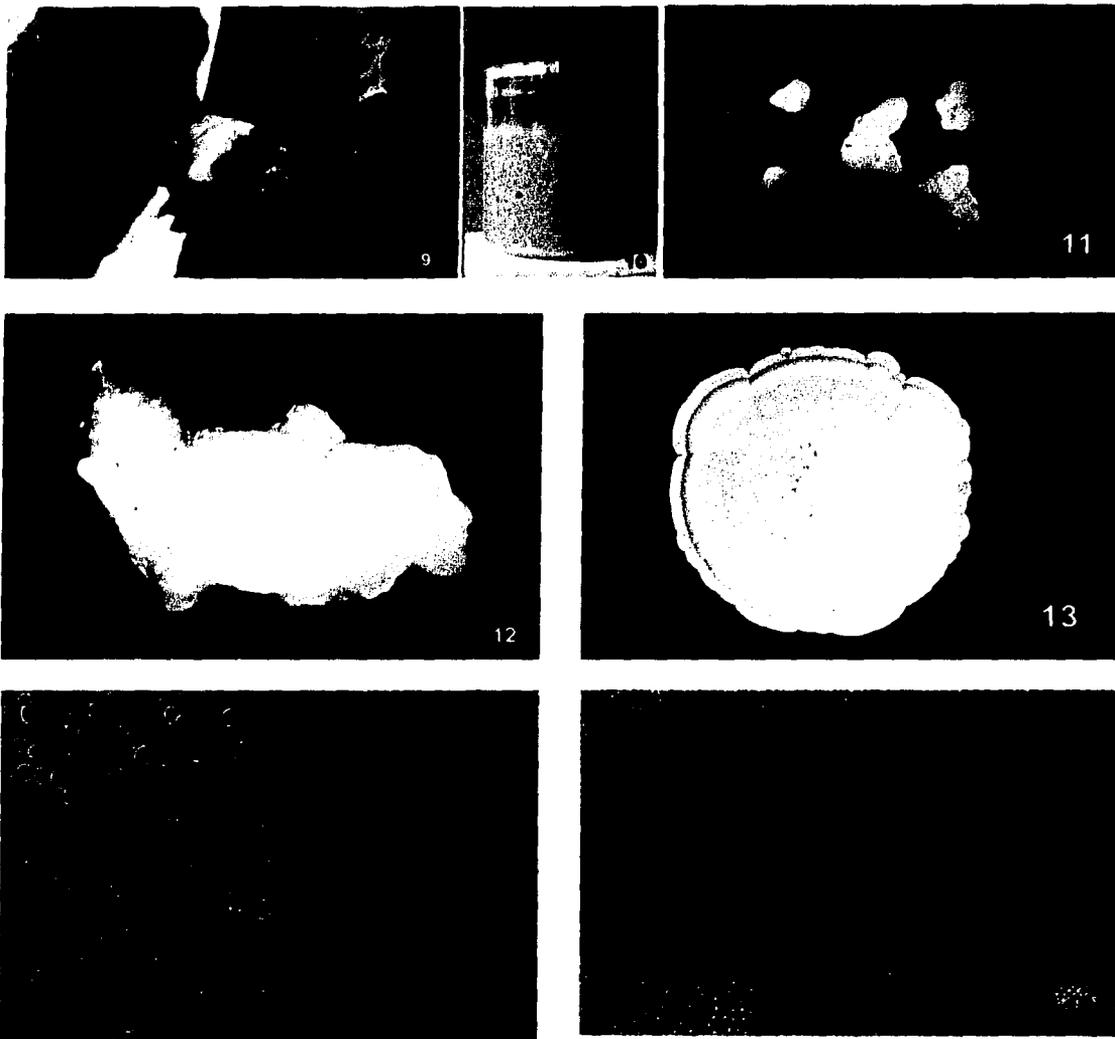
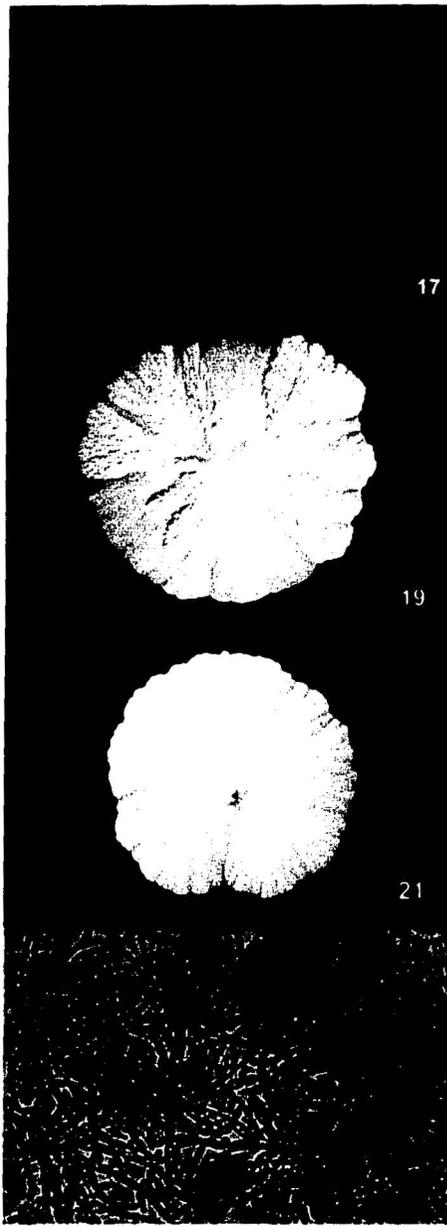
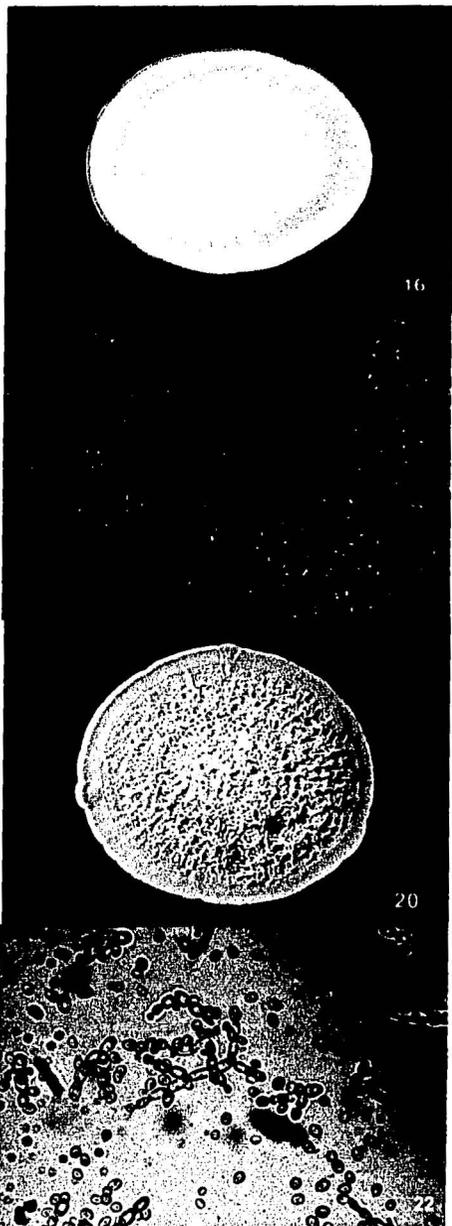


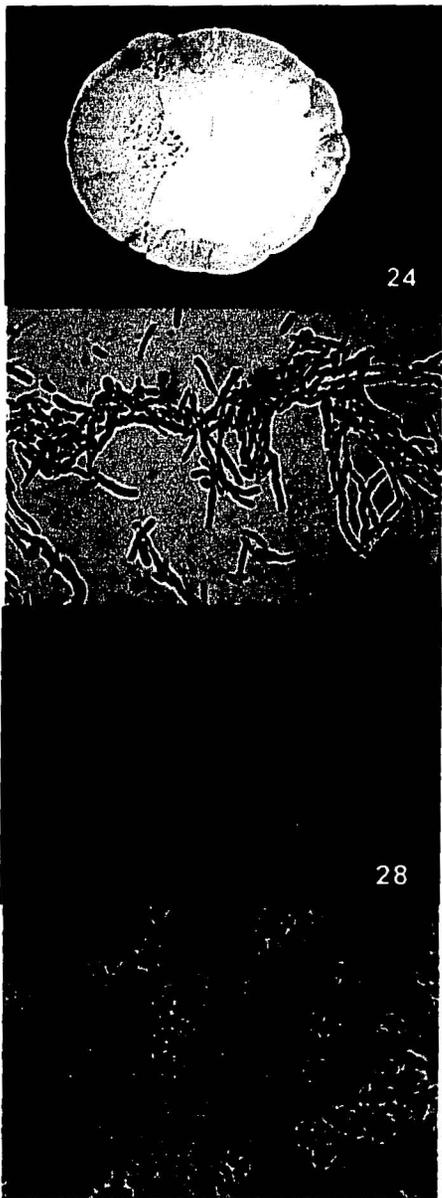
Fig. 9. Secreción gomosa endurecida formada sobre cladodio de nopal. **Fig. 10.** Granos de tибicos cultivados en agua con piloncillo. **Fig. 11.** Granos de tибicos rehidratados. **Fig. 12.** Secreción gomosa de nopal rehidratada. **Figs. 13-15.** *Candida famata* var. *famata*: **13.** Colonia gigante, después de 1 mes de incubación en GELPA a 25°C, X 1.0. **14.** Células vegetativas esferoidales, solitarias o en pares, después de 3 días de incubación en AML (Difco) a 25°C, X 800. **15.** Células vegetativas después de 3 días de incubación en placa de Dalmau de HMA (Difco) a 25°C, X 800.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Figs. 16-18. *Candida guilliermondii*: 16. Colonia gigante, después de 1 mes de incubación en GELPA a 25°C, X 1.0. 17. Células vegetativas ovaladas, después de 3 días de incubación en AML (Difco) a 25°C, X 800. 18. Seudomicelio bien desarrollado bajo condiciones anaerobias, después de 3 días de incubación en placa de Dalmou de HMA (Difco) a 25°C, X 800. **Figs. 19-23. *Candida lambica*:** 19-21. Colonia gigante, después de 1 mes de incubación en GELPA a 25°C, X 1.0. 22. Células vegetativas esferoidales, ovaladas y elipsoidales, después de 3 días de incubación en AML (Difco) a 25°C, X 800. 23. Seudomicelio bien desarrollado bajo condiciones anaerobias, después de 3 días de incubación en placa de Dalmou de HMA (Difco) a 25°C, X 800.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



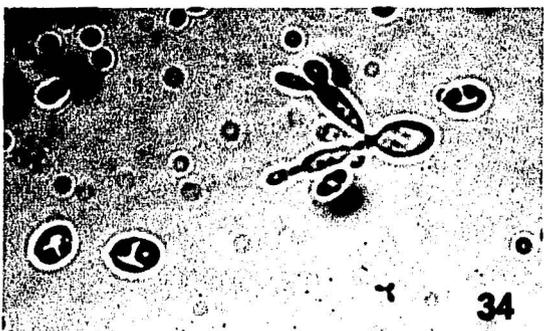
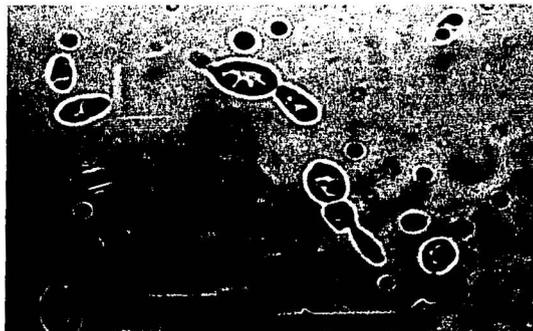
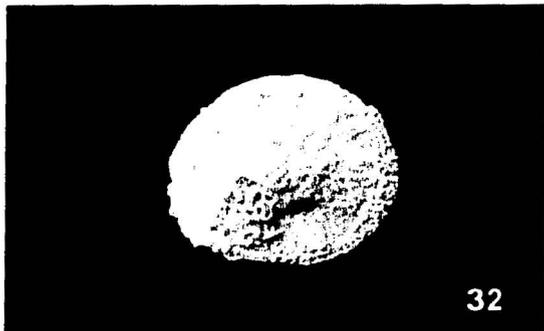
24

28

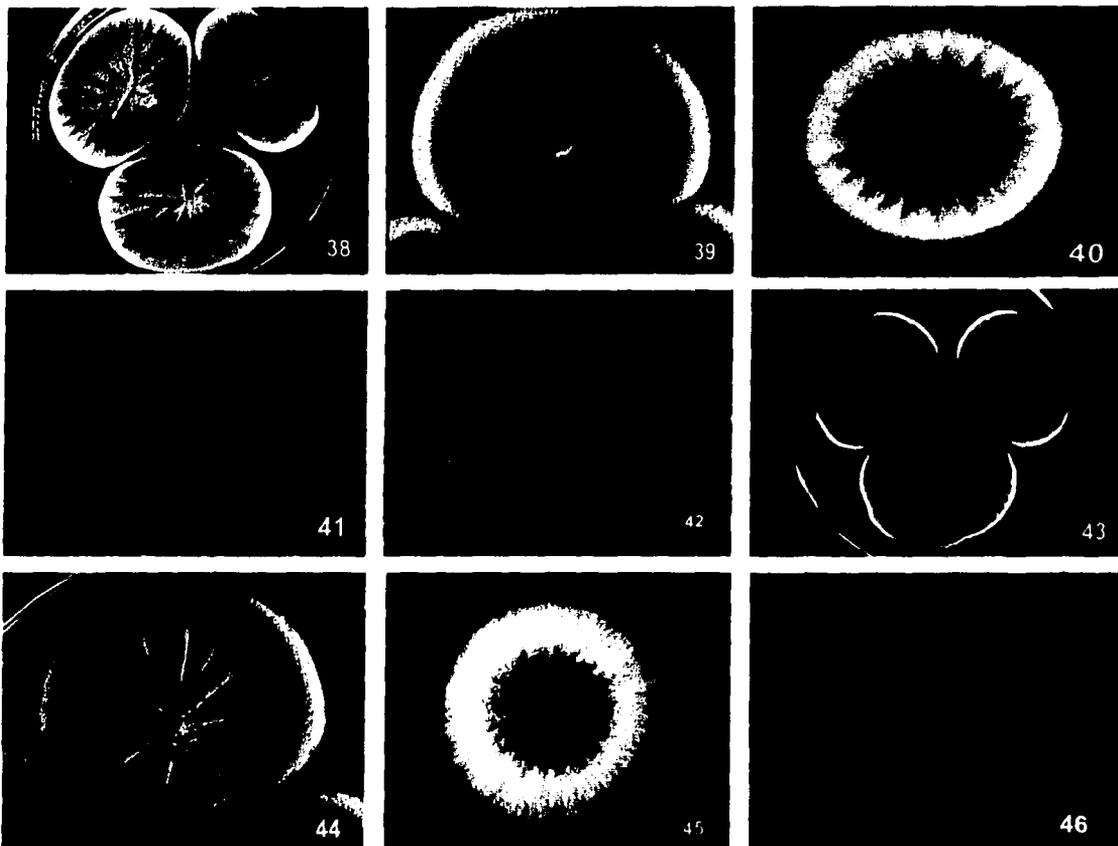


29

Figs. 24-27. *Clavispora opuntiae*: 24. Colonia gigante, después de 1 mes de incubación en GELPA a 25°C, X 1.0. 25-26. Células vegetativas esferoidales, ovaladas y elongadas, aisladas, en pares o formando cortas cadenas, después de 3 días de incubación en AML (Difco) a 25°C, X 800. 27. Seudomicelio bien desarrollado bajo condiciones aerobias y anaerobias, después de 3 días de incubación en placa de Dalmou de HMA (Difco) a 25°C, X 800. **Figs. 28-31. *Rhodothorula mucilaginosa*:** 28-29. Colonia gigante, después de 1 mes de incubación en GELPA a 25°C, X 1.0. 30. Células vegetativas esferoidales y ovaladas aisladas, en pares o formando pequeñas agrupaciones, después de 3 días de incubación en AML (Difco) a 25°C, X 800. 31. Células vegetativas, después de 3 días de incubación en placa de Dalmou de HMA (Difco) a 25°C, X 800.

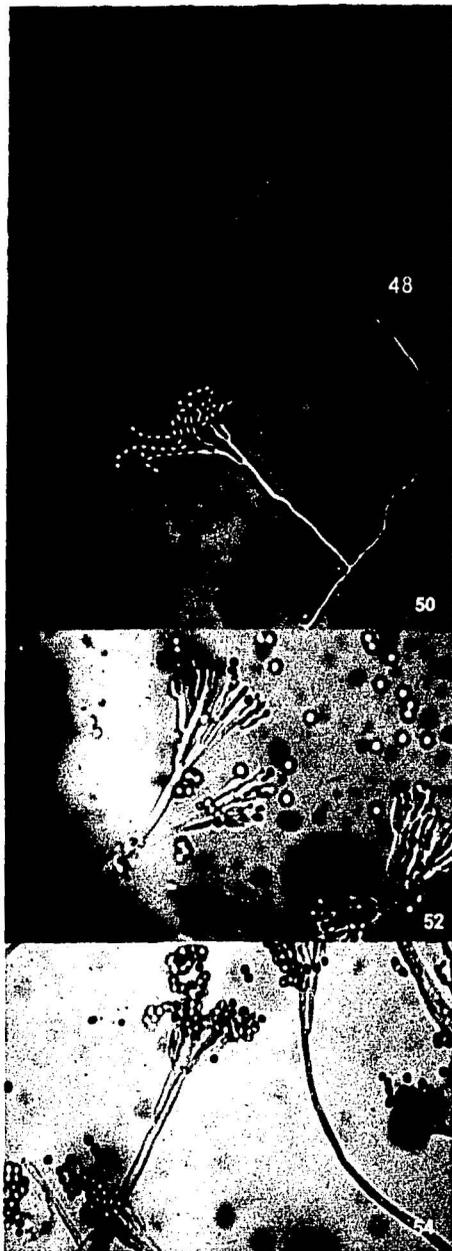


Figs. 32-37. *Pseudozyma fusiformata*: 32. Colonia gigante, después de 1 mes de incubación en GELPA a 25°C, X 1.0. 33-35. Células vegetativas ovaladas, elongadas, ovipiriformes y apiculadas aisladas, agrupadas o formando cortas cadenas propagándose por la formación de células blásticas (conidios) en la punta de denticulos, después de 30 días de incubación en PDA a 25°C, X 1 000. 36-37. Micelio verdadero, con septo bien definido bajo condiciones aerobias y anaerobias, después de 3 días de incubación en placa de Dalmau de AA a 25°C, X 800.



Figs. 38-42. *Penicillium aurantiogriseum*: 38-39. Colonias después de 7 días de incubación en CELA a 25°C, X 0.8. 40. Colonia después de 7 días de incubación en G25N a 25°C, X 0.8. 41-42. Penicilos triverticilados, con verticilos de ramas, métulas y fiálides, X 800. **Figs. 43-46. *Penicillium crustosum*:** 43-44. Colonias después de 7 días de incubación en CELA a 25°C, X 0.8. 45. Colonia después de 7 días de incubación en G25N a 25°C, X 0.8. 46. Penicilo triverticilado, con verticilos de ramas, métulas y fiálides, X 800.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Figs. 47-48. *Penicillium griseofulvum*: 47. Colonia después de 7 días de incubación en CELA a 25°C, X 0.8. 48. Penicilo triverticilado, con verticilos de ramas, métulas y fiálides, X 800. **Figs. 49-50. *Penicillium* sp. (1):** 49. Colonia después de 7 días de incubación en CELA a 25°C, X 0.8. 50. Penicilo biverticilado, con verticilos de métulas y fiálides, X 800. **Figs. 51-52. *Penicillium* sp. (2):** 51. Colonia después de 7 días de incubación en CELA a 25°C, X 0.8. 52. Penicilo triverticilado, con verticilos de ramas, métulas y fiálides, X 800. **Figs. 53-54. *Penicillium* sp. (3):** 53. Colonia después de 7 días de incubación en CELA a 25°C, X 0.8. 54. Penicilo triverticilado, con verticilos de métulas y fiálides, X 800.

LITERATURA CITADA

Amin, E. S., O. M. Awad y M. M. El-Sayed. 1970. The mucilage of *Opuntia ficus-indica* Mill. *Carbohydr. Res.* 15 (1): 159-161.

Arana, F. 1990. *Ecología para principiantes*. Ed. Trillas, México.

Armijo de Vega, C., J. Taboada, P. Lappe y M. Ulloa. 1991. Productos de fermentación por tибicos y levaduras asociadas. *Rev. Lat.-Amer. Microbiol.* 33:3-16.

Barker, S. F. y W. T. Starmer. 1982. *Ecological genetics and evolution: the cactus-yeast-Drosophila model system*. Academic Press, Sydney.

Barker, J. S. F., P. D. East, H. J. Phaff y M. Miranda. 1984. The ecology of yeast flora in necrotic *Opuntia* cacti and of associated *Drosophila* in Australia. *Microbial. Ecol.* 10: 379-399.

Barnett, J. A., R. W. Payne y D. Yarrow. 1990. *Yeasts: Characteristics and Identification*. 2a ed. University Press, Cambridge.

Barnett, J. A., R. W. Payne y D. Yarrow. 2000. *Yeasts: Characteristics and Identification*. 3a ed. University Press, Cambridge.

- Bautista, C. R. 1982. *Los agrosistemas nopaleros del Valle de México*. Tesis Profesional. Escuela Nacional de Agronomía, Chapingo, México.
- Benson, L. y D. L. Walkington. 1968. *Los nopales de California*. *Cact. Suc. Méx.* 13 (2): 27-33.
- Bowles, J. M. y M. A. Lachance. 1983. Patterns of variation in the yeast flora of exudates in an oak community. *Can. J. Bot.* 61: 2984-2995.
- Bravo, H. H. 1964. Datos acerca de la utilización, cultivo y plagas de cactáceas. *Cact. Suc. Méx.* 9 (4): 89-94.
- Bravo, H. H. e I. L. Piña. 1979. Algunos aspectos sobre la industrialización de los nopales. *Cact. Suc. Méx.* 24 (2): 27-31.
- Brom, R. F. 1970. *El Nopal*. Comisión Nacional de Fruticultura, S.A.G., México.
- Calderón, A. y T. Herrera. 1989. Levaduras de los tibicos y de la madre del vinagre en México. *Anales Inst. Biol. Univ. Nac. Autón. México, Ser. Bot.* 59 (1): 49-54.
- Coronado, P. R. 1939. *Estudio sobre las plagas del nopal, con especial referencia a Lanifera cyclades*. Druce. Tesis profesional. Escuela Nacional de Agronomía. Chapingo, México.

Davenport, R. R. 1980. An introduction to yeasts and yeast-like organisms. *In*: Skinner, F. A., S. M. Passmore y R. R. Devenport (Eds.), *Biology and Activities of Yeasts*. Academic Press, Londres.

Díaz-Garcés, J., V. Díaz-Garcés, M. Ulloa y J. Taboada. 1988. Determinación de algunos parámetros para la producción doméstica de tibicos. *Rev. Lat.-Amer. Microbiol.* 30:143-146.

Estrada-Cuéllar, L. 1985. *Estudio de las levaduras de los tibicos y de la madre del vinagre*. Tesis profesional, Facultad de Ciencias, UNAM, México, D. F.

Fogleman, J. C. 1982. The role of volatiles in the ecology of cactophilic *Drosophila*. *In*: Barker, J. S. F. y W. T. Starmer (Eds.), *Ecological Genetics and Evolution: The Cactus-Yeast-Drosophila Model System*. Academic Press, Sydney.

Foster, J. L. M. y J. C. Fogleman. 1993. Identification and ecology of bacterial communities associated with necroses of three cactus species. *Appl. Environ. Microbiol.* 59 (1): 1-6.

Ganter, P. F. 1988. The vectoring of cactophilic yeasts by *Drosophila*. *Oecologia* 75: 400-404.

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

Godoy, P. A. 1987. *Recopilación bibliográfica sobre los aspectos históricos, etnobiológicos, microbiológicos y químicos de las bebidas alcohólicas no destiladas indígenas de México*, Tesis profesional, Facultad de Ciencias, UNAM, México, D.F.

Herrera, T., C. Salinas y S. Palacios. 1984. Estudio de las cepas de *Klebsiella oxytoca* (Flugge) Lautrop, fijadoras de nitrógeno, aisladas de las zoogreas llamadas "tibicos". *Rev. Lat.-Amer. Microbiol.* 27: 253-257.

Hesseltine, C. W. 1965. A millennium of fungi, food and fermentation. *Mycologia* 57: 149-197.

Horisberger, M. 1969. Structure of the dextran of the tibi grain. *Carbohydr. Res.* 10: 379-385.

Janzen, D. H. 1973. Community structure of secondary compounds in plants. *Pure and Appl. Chem.* 34: 529-538.

Kircher, H. W. 1982. Chemical composition of cacti and its relationship to Sonoran Desert *Drosophila*. In: Barker, J. S. F. y W. T. Starmer (Eds.), *Ecological Genetics and Evolution: the Cactus-Yeast-Drosophila Model System*. Academic Press, Sydney.

Kreger-van Rij, N.J.W. 1984. *The Yeasts: A Taxonomic Study*, 3a ed. Elsevier, Amsterdam.

Kurtzman, C. P. y J. W. Fell. 1998. *The Yeasts: A Taxonomic Study*. 4a ed. Elsevier, Amsterdam.

Lachance, M. A. 2000. Yeast biodiversity: how much and how many? *In: Van Dijken, J. P. and W. A. Scheffers (Eds.), Abstracts. Tenth International Symposium on Yeasts, ISY 2000, The rising power of yeasts in science and industry*. Delft University Press. Papendal, Arnhem.

Lachance, M. A. y W. T. Starmer. 1998. Ecology and yeasts. *In: Kurtzman, C. P. y J. W. Fell. (Eds.), The Yeasts: A Taxonomic Study*. 4a ed. Elsevier, Amsterdam.

Lachance, M. A., B. J. Metcalf y W. T. Starmer. 1982. Yeast from exudates of *Quercus*, *Ulmus*, *Populus* and *Pseudotsuga*: new isolations and elucidation of some factors affecting ecological specificity. *Microbial. Ecol.* 8: 191-198.

Lachance, M. A., W. T. Starmer y H. J. Phaff. 1988. Identification of yeasts found in decaying cactus tissue. *Can. J. Microbiol.* 34: 1025-1036.

Lappe, P. y M. Ulloa. 1990. Yeasts isolated from the gummy secretion of the cactus *Opuntia*. *In: Reisinger, A. and A. Bresinsky (Eds.), Fourth International Mycological Congress, IMC4*. Botanical Institute, University of Regensburg.

Lappe, P., M. T. Rubio, C. Armijo de Vega y M. Ulloa. 1992. Especies de levaduras aisladas de tibicos cultivados en soluciones azucaradas de piloncillo y de melaza. *Micol. Neotrop. Apl.* 5: 1-10.

Leufvén, A. y L. Nehls. 1986. Quantification of different yeasts associated with the bark beetle, *Ips typographus*, during its attack on a spruce tree. *Microbial. Ecol.* 12: 237-243.

Lutz, M. L. 1898. Recherches biologiques sur la constitution du tibi. *Compt. Rend. Soc. Biol.* 5:1124-1126.

Lutz, M. L. 1899 a. Recherches biologiques sur la constitution du tibi. *Bull. Trim. Soc. Mycol. Fr.* 15:68.

Lutz, M. L. 1899 b. Nouvelle recherches sur le tibi. *Bull. Trim. Soc. Mycol. Fr.* 15:157.

Mascott y Terrés, M. 1952. *Contribución al conocimiento de las levaduras de los tibicos del arroz*. Tesis profesional, Facultad de Ciencias, UNAM, México, D. F.

McGarvie, D. y H. Parolis. 1979. The mucilage of *Opuntia ficus-indica*. *Carbohydr. Res.* 69: 171-179.

Meyer, B. N. y J. L. Mc Laughlin. 1981. Economic uses of *Opuntia*. *Cact. Succ. J. (US)*. 53:107-112.

Moinas, M., M. Horisberger y H. Bauver. 1980. The structural organization of the tibi grain as revealed by light, scanning and transmission microscopy. *Arch. Microbiol.* 128: 157-161.

Morais, P. B., C. A. Rosa, A. N. Hagler y L. C. Mendonca-Hagler. 1994. Yeast communities of the cactus *Pilosocereus arrabidaei* as resources for larval and adult stage of *Drosophila serido*. *Antonie van Leeuwenhoek* 66: 313-317.

Morais, P. B., C. A. Rosa, A. N. Hagler y L. C. Mendonca-Hagler. 1995. Yeast communities as descriptors of habitat use by the *Drosophila faciola* subgroup (repleta group) in Atlantic rain forests. *Oecologia* 104: 45-51.

Moreno y Díaz, M. P. 1932. *Contribución al estudio bacteriológico y al análisis químico del vinagre que produce el tífico*. Tesis profesional, Escuela Nacional de Ciencias Químicas, UNAM, México, D.F.

Paulsen, B. S. y Lund, P. S. 1979. Water-soluble polysaccharides of *Opuntia ficus-indica* cv "Burbank's spineless". *Phytochem.* 18: 569-571.

Phaff, H. J. 1966. *The Life of Yeasts, Their Nature, Activity, Ecology and Relation to Mankind*. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts.

Phaff, H. J. y W. T. Starmer. 1980. Specificity of natural habitats for yeasts and yeast-like organisms. In: Skinner, F. A., S. M. Passmore y R. R. Davenport (Eds.), *Biology and Activities of Yeasts*. Academic Press, Londres.

Phaff, H. J., M. Miranda, W. T. Starmer, J. Tredick y J. S. F. Barker. 1986. *Clavispora opuntiae*, a new heterothallic yeast occurring in necrotic tissue of *Opuntia* species. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 36 (3): 372-379.

Pidoux, M. 1989. The microbial flora of sugary kefir grain (the ginger beer plant): biosynthesis of the grain from *Lactobacillus hilgardii* producing a polysaccharide gel. *MIRCEN Jour.* 5: 223-238.

Pidoux, M., J. M. Brillouet y B. Quemener. 1988. Characterization of the polysaccharides from a *Lactobacillus brevis* and from sugary kefir grains. *Biotechnol. Lett.* 10 (6): 415-420.

Pitt, J. I. 1979. *The Genus Penicillium and its Teleomorphic States Eupenicillium and Talaromyces*. Academic Press, Londres.

Pitt, J. I. 1985. *A Laboratory Guide to Common Penicillium Species*. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization, Division of Food Research. North Ryde, Australia.

Rosa, C. A., A. N. Hagler, L. C. Mendonca-Hagler, P. B. Morais, N. C. M. Gomes y R. F. Monteiro. 1992. *Clavispora opuntiae* and other yeasts associated with the moth *Sigelgaita* sp. in the cactus *Pilosocereus arrabidaei* of Rio de Janeiro, Brazil. *Antonie van Leeuwenhoek* 62: 267-272.

Rosa, C. A., P. B. Morais, A. N. Hagler, L. C. Mendonca-Hagler y R. F. Monteiro. 1994. Yeast communities of the cactus *Pilosocereus arrabidae* and associated insects in the sandy costal plains of Southeastern Brazil. *Antonie van Leeuwenhoek* 65:55-62.

Rubio, M. T., Lappe, P., Wachter, C. y M. Ulloa. 1993. Estudio microbiano y químico de la fermentación de soluciones de piloncillo inoculadas con tибicos. *Rev. Lat.-Amer. Microbiol.* 35: 19-31.

Ruiz Oronoz, M. 1932. Estudio micológico de las zoogreas conocidas vulgarmente como tибicos. *An. Ins. Biol. UNAM.* 3: 183-190.

Saint-Phard Delva, C. J. 1984. *Aprovechamiento de los desperdicios de plátano maduro por fermentación sólida*. Tesis profesional, Facultad de Química, UNAM, México, D. F.

Sands, L. y R. Klaas. 1929. The composition of cholla gum. The isolation of L-arabinose, D-galactose and L-rhamnose. *J. Am. Chem. Soc.* 51: 3441-3446.

Shehata, A. M. El Tabey, E. M. Mrak y H. J. Phaff. 1955. Yeasts isolated from *Drosophila* and from their suspected feeding places in southern and central California. *Mycologia* 47: 799-811.

Starmer, W. T. y H. J. Phaff. 1983. Analysis of the community structure of yeasts associated with the decaying stems of cactus. II. *Opuntia* species. *Microbial. Ecol.* 9: 247-259.

Starmer, W. T., H. W. Kircher y H. J. Phaff. 1980. Evolution and speciation of host plant specific yeasts. *Evolution* 34 (1): 137-146.

Starmer, W. T., P. F. Ganter, V. Aberdeen, M. A. Lachance y H. J. Phaff. 1987. The ecological role of killer yeasts in natural communities of yeasts. *Can. J. Microbiol.* 33: 783-796.

Starmer, W. T., F. Peris y A. Fontdevila. 1988a. The transmission of yeasts by *Drosophila buzzatii* during courtship and mating. *Anim. Behav.* 36: 1691-1695.

Starmer, W. T., H. J. Phaff, J. M. Bowles y M. A. Lachance. 1988 b. Yeasts vectored by insects feeding on decaying saguaro cactus. *The Southwestern Naturalist* 33(3): 362-363.

Taboada, J., M. Ulloa, L. Estrada-Cuéllar y J. Díaz-Garcés. 1987. Estudio de la levadura de los tibicos, y pruebas de alimentación con aves y roedores utilizando estas zoogreas en la dieta. *Rev. Lat-Amer. Microbiol.* 29: 73-83.

Ulloa, M. y T. Herrera. 1981. Estudio de *Pichia membranaefaciens* y *Saccharomyces cerevisiae*, levaduras que constituyen parte de las zoogreas llamadas tibicos en México. *Bol. Soc. Mex. Mic.* 16: 63-75.

Ulloa, M. J. Díaz-Garcés, L. Estrada-Cuéllar y J. Taboada. 1987 a. Estudio de las levaduras de la madre del vinagre, y pruebas de alimentación con aves y conejos utilizando esta nata en la dieta. *Rev. Lat-Amer. Microbiol.* 29: 245-252.

Ulloa, M., T. Herrera y P. Lappe. 1987 b. *Fermentaciones tradicionales indígenas de México*. No. 16 de la Serie de Sociales. Instituto Nacional Indigenista, México.

Van der Walt, J. P. y D. Yarrow. 1984. Methods for the isolation, maintenance, classification and identification of yeasts. *In: Kreger-van Rij, N. J. W. (Ed.), The Yeasts: A Taxonomic Study*. 3a ed. Elsevier, Amsterdam.

Yarrow, D. 1998. Methods for the isolation, maintenance and identification of yeast. *In: Kurtzman, C. P. and J. W. Fell. (Eds.), The Yeasts A Taxonomic Study*. 4a ed. Elsevier, Amsterdam.