

ESTUDIO DE UNA CEPA DE *SACCHAROMYCES PASTORI* (GUILLIERMOND) LODDER Y KREGER-VAN RIJ

Por MANUEL RUIZ ORONoz,
del Instituto de Biología.

La cepa de levadura que estudiamos a continuación fué aislada en marzo de 1951, de la superficie del fruto del chile serrano verde (*Capsicum annum*) originario de la ciudad de Papantla, Estado de Veracruz.

Varios fragmentos del pericarpio del fruto se colocaron en tubos con mosto de cerveza líquido. En 3 ó 4 días se obtuvo, en todos los tubos, un cultivo muy abundante de levaduras y bacterias. Se eliminaron las bacterias en los siguientes cultivos y después se hicieron aislamientos de las levaduras por el método de Lindner, separándose numerosas cepas puras, las que, después de estudiarlas en sus caracteres fundamentales, se agruparon en dos especies: *Torulopsis famata* y *Saccharomyces pastori*. De esta última especie nos ocupamos en el presente trabajo.

CARACTERES MACROSCOPICOS DEL CULTIVO EN MEDIO LIQUIDO

Extracto de malta (*Malt extract*, Difco) pH: 4.8

Temperatura: 25° C.

Edad: 48 horas.

Anillo: a las 48 horas se presenta un anillo delgado y fino, apenas perceptible y muy transparente.

Velo: desde las 48 horas hasta los dos meses que se observó el cultivo, no se formó velo.

Sedimento: a las 48 horas es escaso y de color blanquecino; estos mismos caracteres se conservan durante mucho tiempo, aunque aumenta un poco el sedimento.

Fermentación: no se observó.

Turbidez: no se presenta.

CARACTERES MACROSCOPICOS DE LOS CULTIVOS
EN MEDIOS SOLIDOS

CULTIVOS EN PLACA

Mosto agar (Wort agar, Difco) pH: 5.0

Temperatura: 25° C.

Edad del cultivo: 5 días.

Forma: circular; algunas colonias son ligeramente ovales.

Superficie: lisa en la parte externa y finamente rugosa en el centro.

Elevación de la superficie: ligeramente convexa.

Bordes: lobulados.

Color: blanco marfil.

Estructura interna: amorfa.

Caracteres ópticos: los cultivos son ligeramente translúcidos.

Consistencia: cremosa.

Brillo: ninguno.

Acción sobre el medio: ninguna.

Dimensiones: 5 a 9 mm. de diámetro en las diversas colonias obtenidas.

*Extracto de malta gelatinado (Malt extract con 15%
de gelatina) pH: 5.0*

Temperatura: 18° a 20° C.

Edad del cultivo: 6 días.

Forma: circular; muy regular y constante en todos los cultivos.

Superficie: un poco rugosa.

Elevación de la superficie: levemente convexa; la parte central se hunde un poco.

Bordes: finamente ondulados.

Color: blanco marfil.

Estructura interna: amorfa.

Caracteres ópticos: los cultivos son opacos.

Consistencia: viscosa.

Brillo: no tiene.

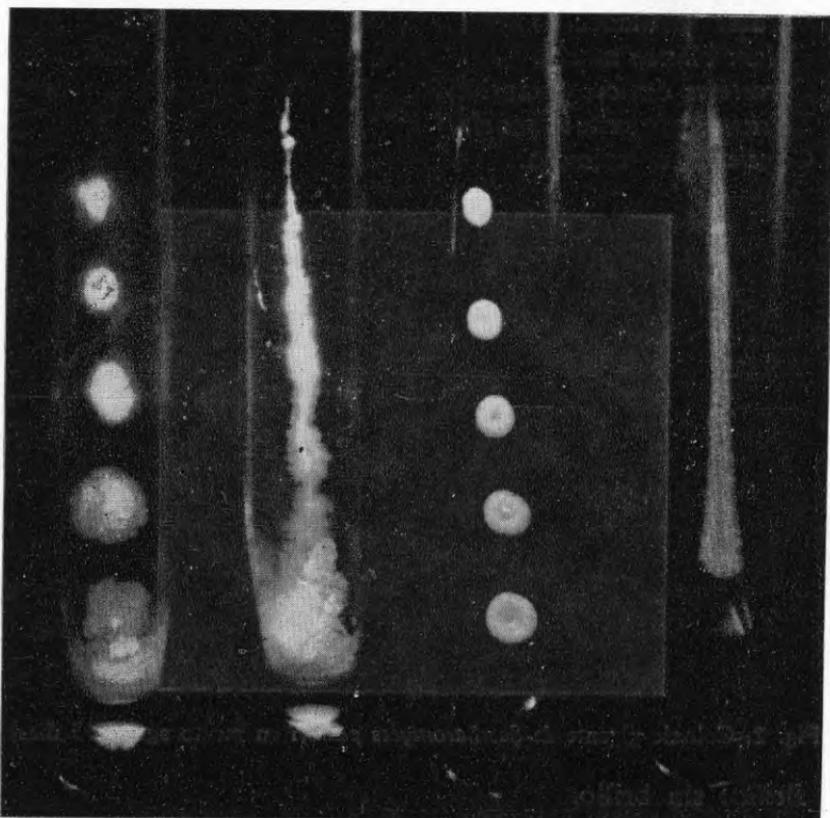


Fig. 1. Cultivos de *Saccharomyces pastori* en placa y en estria (12 días). Los dos tubos de la izquierda son de mosto agar, y los dos de la derecha de extracto de malta gelatinado.

Acción sobre el medio: ninguna.

Dimensiones: 4 a 6 mm. de diámetro en los distintos cultivos.

CULTIVOS EN ESTRIA

Mosto agar pH: 5.0

Temperatura: 25° C.

Edad del cultivo: 6 días.

Forma: filiforme en la región superior y equinulada en el resto del cultivo.

Superficie: lisa en los bordes y ligeramente rugosa en el centro.

Elevación de la superficie: plana.

Bordes: lobulados.

Color: blanco marfil.

Caracteres ópticos: translúcida.

Estructura interna: amorfa.

Consistencia: cremosa.

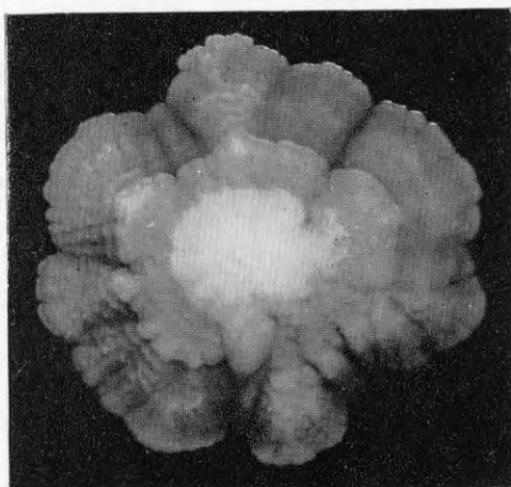


Fig. 2. Colonia gigante de *Saccharomyces pastori* en mosto agar (45 días).

Brillo: sin brillo.

Acción sobre el medio: ninguna.

Extracto de malta gelatinado pH: 5.0

Temperatura: 18° a 20° C.

Edad del cultivo: 6 días.

Forma: filiforme en la región superior; un poco extendida en la parte basal.

Superficie: finamente rugosa en la periferia y lisa en la región central.

Bordes: finamente ondulados.

Color: blanco marfil.

Caracteres ópticos: opaco.

Estructura interna: amorfa.

Consistencia: viscosa.

Brillo: no tiene.

Acción sobre el medio: ninguna.

CULTIVOS EN PICADURA

En mosto agar y a 25° C. el cultivo a lo largo del piquete tiene forma equinulada y con bordes ondulados; el crecimiento y aspecto en la superficie son semejantes a los de los cultivos en placa.

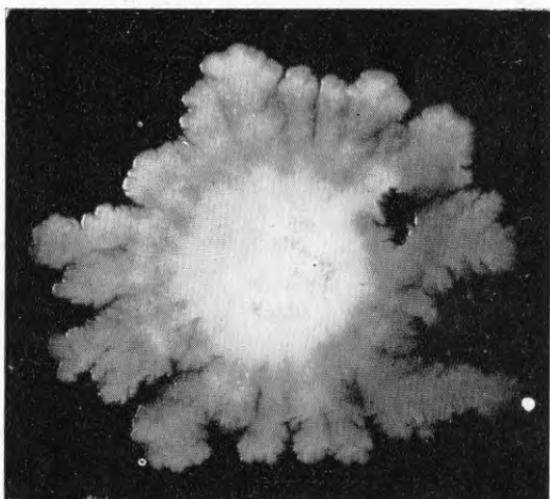


Fig. 3. Colonia gigante de *Saccharomyces pastori* en extracto de malta gelatinado (45 días).

En extracto de malta gelatinado y a 18°-20° C., la forma del cultivo es también equinulada, aunque la extremidad inferior es filiforme; los bordes son finamente vellosos. El crecimiento y aspecto del cultivo en la superficie son semejantes a los de los cultivos en placa.

CARACTERES DE LAS COLONIAS GIGANTES

Mosto agar pH: 5.0

Temperatura: 25° C. los 12 primeros días; después 18°-20° C.

Edad del cultivo: 45 días.

Forma: circular irregular, pues se forman grandes lóbulos en la periferia, aunque no muy profundos.

Superficie: se notan claramente tres zonas de crecimiento: una central, con una pequeña elevación media, de la cual se forman ligeras estrías radiales, siendo la superficie lisa; otra zona media, que rodea en forma de anillo a la anterior, de superficie lisa y ligeramente ondulada, con estrías radiales poco marcadas, y la última zona externa que tiene en la periferia los lóbulos, cuya superficie es lisa en unos sitios, rugosa en otros y con numerosas estrías radiales.

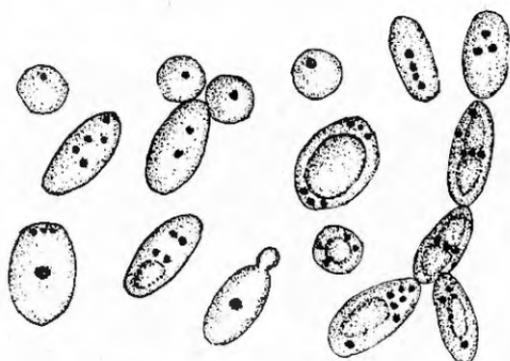


Fig. 4. Células de *Saccharomyces pastori* en extracto de malta (72 horas). Algunas células muestran vacuolas y glóbulos de grasa.

Elevación de la superficie: plana.

Bordes: lobulados y ondulados.

Color: blanco marfil en la zona interna; blanco cremoso en las otras dos zonas de crecimiento.

Caracteres ópticos: ligeramente translúcido.

Consistencia: cremosa.

Brillo: ligero.

Dimensiones: 6 cm. de diámetro.

Extracto de malta gelatinado pH: 5.0

Temperatura: 18°-20° C.

Edad del cultivo: 45 días.

Forma: circular muy irregular, pues se forman largos lóbulos con bordes recortados que dan a la periferia en ciertos sitios un aspecto arborescente.

Superficie: lisa, con leves estrías radiales; en los lóbulos es un poco rugosa.

Bordes: recortados y ondulados.

Color: blanco en el centro y blanco cremoso en la periferia.

Caracteres ópticos: el cultivo es opaco.

Consistencia: viscosa.

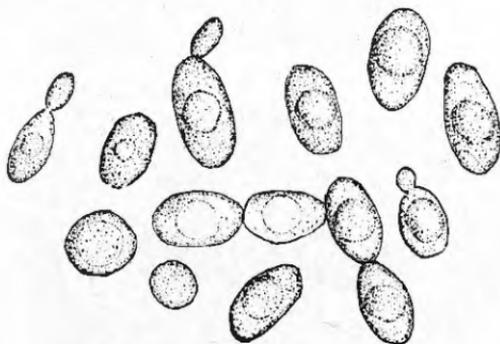


Fig. 5. Células de *Saccharomyces pastori* en mosto agar (24 horas). En ellas se observan las vacuolas.

Brillo: sin brillo.

Dimensiones: 5 a 6 cm. de diámetro.

CARACTERES MICROSCOPICOS DE LAS CELULAS

Extracto de malta pH: 4.8

Temperatura: 25° C.

Edad: 72 horas.

Forma: principalmente ovales y circulares; muy pocas largo-ovales.

Agrupamiento: la mayoría de las células están aisladas, algunas en pares y muy pocas forman cortas cadenas.

Citoplasma: transparente y sin granulaciones.

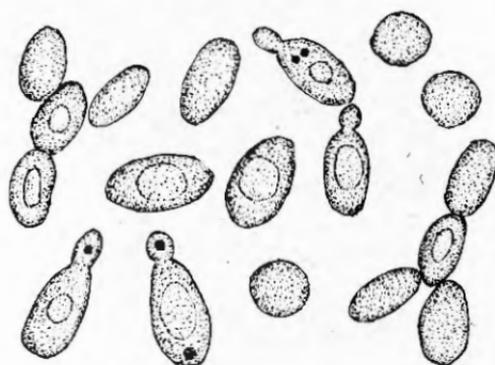
Vacuolas: sólo se observan una o dos vacuolas en algunas células.

Grasa: la mayor parte de las células tienen varios glóbulos de grasa, aunque algunas sólo tienen uno o dos.

Reproducción: por brotes unipolares.

Ascas y ascosporas: no se observaron.

Dimensiones: las células ovales (2.5-5) × (3.5-6) micras, y las cilíndricas de 2.5 a 5 micras de diámetro.

Mosto agar pH: 5.0*Temperatura:* 25° C.*Edad del cultivo:* 24 horas.*Forma:* las células son ovales y largo-ovales; muy pocas circulares.*Agrupamiento:* las células en su mayoría están aisladas o en pares; muy pocas en cortas cadenas de 3 a 6 células.Fig. 6. Células de *Saccharomyces pastori* en extracto de malta gelatinado (48 horas).*Citoplasma:* muy transparente y sin granulaciones.*Vacuolas:* la mayor parte de las células presentan una gran vacuola.*Grasa:* no se observan glóbulos; a los 15 días del cultivo aparecen algunos glóbulos pequeños.*Reproducción:* por brotes unipolares.*Ascas y ascosporas:* no se observan.*Dimensiones:* células ovales (2.5-3.5) × (3.5-5) micras; células largo-ovales (2-3.5) × (4-6.5) micras.*Extracto de malta gelatinado* pH: 5.0*Temperatura:* 18° a 20° C.*Edad del cultivo:* 48 horas.*Forma:* la mayoría de las células son largo-ovales y ovales; muy pocas son circulares.*Agrupamiento:* aisladas o en pares; muy pocas en cortas cadenas de unas cuantas células.

Citoplasma: transparente y sin granulaciones.

Vacuolas: muchas células con una gran vacuola, pero muchas otras sin este elemento.

Grasa: en pocas células se forman uno a dos glóbulos pequeños.

Reproducción: por brotes unipolares.

Ascas y ascosporas: no se forman.

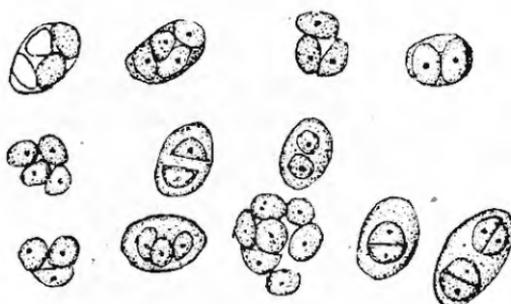


Fig. 7. Ascas y ascosporas de *Saccharomyces pastori* en fragmentos de zanahoria (48 horas). Algunas esporas se encuentran libres formando pequeños grupos.

Dimensiones: semejantes a las anotadas para el extracto de malta en las células ovales y circulares; las largo-ovales, con ligeras diferencias, tienen las mismas dimensiones que en mosto agar.

ESPORULACION

Se utilizaron en este caso los siguientes medios: Gorodkowa, fragmentos de papa y de zanahoria, y discos de yeso. Solamente se obtuvieron ascas y ascosporas, a las 48 horas y a 25° C., en los fragmentos de zanahoria.

Las esporas, en número de 2-4, pronto rompen el asca, pues a las 72 horas muchas de ellas se ven libres, aisladas o en grupos de 2, 3, 4 y aun más. A los 4 días y en los siguientes, muy pocas ascas conservan sus esporas.

La mayoría de las células no se transforman en ascas, siendo, entonces, pocas las que forman esporas.

La forma de las esporas es hemisférica, sin adquirir la forma típica de sombrero (hat-shaped); sus dimensiones son distintas según la cara por la cual se observen: cuando se ven circulares tienen de 2.5 a 2.8 micras de diámetro; si se observan de lado, mostrando su aspecto hemisférico, tienen de 2.5 a 3 micras por 1.25 a 1.50 micras.

No se observó conjugación de las células vegetativas ni de las esporas. Estas germinan directamente, para lo cual crecen, toman la forma de las células vegetativas y comienzan a dar brotes.

CARACTERES BIOQUIMICOS

Licuefacción de la gelatina: a los 115 días se inicia una licuefacción ligera, siendo completa a los 4 meses.

Fermentación de azúcares: a las 24 horas es poco intensa, pero a los 3 días es muy intensa, aunque únicamente en los azúcares anotados a continuación, especialmente en la glucosa:

Glucosa	+	Sacarosa	—
Manosa	+	Maltosa	—
Levulosa	+	Lactosa	—
Galactosa	—	Rafinosa	—

Asimilación de azúcares (según el método auxanográfico de Beijerinck):

Glucosa	+	Sacarosa	—
Levulosa	+	Lactosa	—
Manosa	+	Maltosa	—
Galactosa	—		

Asimilación de sustancias nitrogenadas (según el método auxanográfico de Beijerinck):

Nitrato de potasio	—	Asparagina	—
Sulfato de amonio	—	Urea	—
Peptona	+		

Alcohol etílico como fuente de carbono: no se observa ningún crecimiento; el resultado es entonces negativo.

Desdoblamiento de la esculina: negativo.

Producción de compuestos semejantes al almidón: negativo.

Producción de ésteres: positivo; a los 4 días de cultivo en medio apropiado se notó un claro olor a éster.

Reacción de la leche litmus: negativo; a las 3 ó 4 semanas el medio cambia su color morado a blanco cremoso.

Desdoblamiento de la grasa (método de Eijkman): positivo.

Producción de ácido: a los 4 días el resultado es positivo.

CLASIFICACION

En el estudio y clasificación de esta levadura hemos seguido la obra de Lodder y Kreger-Van Rij "The Yeasts. A Taxonomic Study".

Por el hecho de formar ascas y ascosporas, pertenece desde luego a la familia *Endomycetaceae*. Se coloca dentro del género *Saccharomyces* por los siguientes caracteres: células ovales y circulares, reproducción por brotes, formación de esporas hemisféricas de pared lisa, en medio líquido forma sedimento y un anillo muy tenue, fermenta vigorosamente la glucosa y el nitrato no es asimilado.

En cuanto a la especie, hemos hecho una comparación minuciosa entre los caracteres de la cepa aislada y los anotados por Lodder y Kreger Van-Rij para *Saccharomyces pastori*, encontrando ciertas diferencias entre las cuales están las siguientes: existencia en los cultivos de algunas células largo-ovales, formación de un fino anillo desde las 48 horas, obtención de esporas únicamente hemisféricas (en ningún caso en forma de sombrero) y una ligera variación en las dimensiones de las células.

Como estas leves diferencias no creemos que sean de importancia para establecer una nueva especie, ni una nueva variedad, y como los demás caracteres fundamentales son los mismos, estimamos que se trata de la misma especie, o sea de *Saccharomyces pastori* (Guilliermond) Lodder y Kreger-Van Rij.

RESUMEN

En este trabajo se presenta el estudio de una cepa de *Saccharomyces pastori* (Guilliermond) Lodder y Kreger-Van Rij, aislada de la superficie del chile serrano verde (*Capsicum annum*) originario de la ciudad de Papantla, Estado de Veracruz. Sus caracteres esenciales son los siguientes:

En extracto de malta forma sedimento y un anillo delgado y transparente: no forma velo. En mosto agar los cultivos en placa desarrollan colonias circulares, de superficie lisa, ligeramente convexas, con bordes lobulados, color blanco marfil y sin brillo. En este medio las células son ovales, largo-ovales y muy pocas circulares; se encuentran aisladas, en pares y muy raras en cortas cadenas; se reproducen por brotes, y por dimensiones tienen las ovales $(2.5-3.5) \times (3.5-5)$ micras, y las largo-ovales $(2-3.5) \times (4-6.5)$ micras. Forman ascas

y ascoporas únicamente en fragmentos de zanahoria. Las esporas, en número de 2-4, son hemisféricas, y con dimensiones, vistas por su cara circular, de 2.5 a 2.8 micras de diámetro. No se observó conjugación de las células vegetativas ni de las esporas.

A los 115 días de cultivo se inicia una ligera licuefacción de la gelatina, que es completa a los 4 meses; fermenta únicamente glucosa (L. M.); asimila glucosa y en ningún caso el nitrato de potasio; no utiliza el alcohol etílico como fuente de carbono, no desdobra la esculina, ni produce reacción en la leche litmus; forma ésteres, desdobra las grasas y produce ácido.

BIBLIOGRAFIA

- DIDDENS, H. A., und LODDER, J., 1942: Die Anaskosporogenen Hefen. Zweite Hälfte. North-Holland Publishing Company. Amsterdam, pp. 1-511.
- GUILLIERMOND, A., 1920: The Yeasts. John Wiley and Sons. Inc. New York. pp. 1-424.
- , 1928. Clef dichotomique pour la détermination des levures. Libraire Le François, Paris, pp. 1-124.
- , 1937: La Sexualité, Le Cycle de Développement, la Phylogénie et la Classification des Levures. Masson et Cie. Editeurs. Paris, pp. 1-72.
- HENRICI, A. T., 1941: The Yeasts: Genetics, Cytology, Variation, Classification and Identification. Bacteriological Reviews, Vol. 5, pp. 97-179.
- KAYSER, E., 1905: Les Levures. Masson et Cie. Editeurs. Paris, pp. 1-212.
- LODDER, J., 1934: Die Anaskosporogenen Hefen. Erste Hälfte. N. V. Noord-Hollandsche Uitgeversmaatschappij. Amsterdam, pp. 1-256.
- , y KREGER-VAN RIJ, N. J. W., 1952: The Yeasts. A Taxonomic Study. Interscience Publishers, Inc. New York, pp. 1-713.
- SKINNER, C. E., EMMONS, CH. W. and TSUCHIYA, H. M., 1947: Henrici's Molds. Yeasts, and Actinomycetes. John Wiley and Sons, Inc., New York, pp. 1-409.
- STANTIAL, H., 1935: The sporulation of Yeasts. Trans. Roy. Soc. Canada, 29. Sect. III, pp. 175-188.
- STELLING-DEKKER, N. M., 1931: Beiträge zu einer monographie der Hefearten. I teil. Die Sporogenen Hefen. Amsterdam, pp. 1-547.