

ESTUDIO DE *TORULOPSIS FAMATA* (HARRISON) LODDER
Y KREGER-VAN RIJ, AISLADA DEL CHILE SERRANO
VERDE (*CAPSICUM ANNUUM*)

Por MARÍA DEL CARMEN ORTEGA R.,
del Instituto de Biología.

La levadura cuyo estudio presentamos en este trabajo, fué aislada, en marzo de 1951, del fruto del chile serrano verde (*Capsicum annuum*) de Papantla, Ver. Para ello, se procedió de la siguiente manera: con pinzas estériles, y cerca de una flama, se tomaron varios fragmentos del pericarpio del fruto, los que se colocaron en diversos tubos con mosto de cerveza líquido; a los pocos días, en todos los tubos se desarrolló un sedimento formado por levaduras y bacterias. Se eliminaron las bacterias en cultivos sucesivos de mosto líquido adicionado de ácido láctico, y a continuación se hicieron aislamientos por el método de Lindner, logrando así la separación de numerosas cepas puras, las que correspondieron a dos especies, una de las cuales, *Torulopsis famata*, se estudia a continuación.

CARACTERES MACROSCOPICOS DEL CULTIVO
EN MEDIO LIQUIDO

Extracto de malta (Malt extract, Difco) pH: 4.7

Temperatura: 25° C.

Edad: 24 horas.

Anillo: a las 24 horas se observa un anillo transparente, blanquizco, opaco, de 3 a 4 mm. de altura y de bordes regulares; a las 48 horas el anillo es de color blanco, bastante grueso, ligeramente translúcido, con una altura de 7 a 9 mm., y de bordes ligeramente ondu-

lados; en los días siguientes (hasta 36 días) se conservan más o menos los mismos caracteres.

Velo: a las 24 horas se inicia un esbozo de velo muy poco perceptible; a las 48 horas el velo está poco desarrollado; lentamente en los siguientes días se obtiene un velo muy delgado, mucoso y ligeramente brillante, el cual va desapareciendo después con lentitud. A los 40 días casi no se observa, y a los dos meses desaparece por completo.

Sedimento: a las 24 horas se nota un sedimento escaso, blanquecino y transparente; a las 48 horas se encuentra en las mismas condiciones y así permanece hasta los 40 días, tiempo durante el cual estuvo el cultivo en observación.

Fermentación: No se observó durante todo el tiempo del cultivo.

Turbidez: no existe; el medio se conserva siempre límpido y transparente.

CARACTERES MACROSCOPICOS DE LOS CULTIVOS EN MEDIOS SOLIDOS

CULTIVOS EN PLACA

Mosto agar (Wort agar, Difco) pH: 4.8

Temperatura: 25° C.

Edad del cultivo: 5 días.

Forma: circular, bastante regular y de 5 a 9 mm. de diámetro; a los 14 días tiene las mismas características, y lo mismo sucede hasta los 35 días, tiempo durante el cual estuvo en observación el cultivo.

Superficie: lisa, conservándose en la misma forma durante los días siguientes.

Elevación: es plana durante todo el tiempo del cultivo.

Bordes: enteros.

Color: moreno claro en toda la superficie, y más aún en los bordes, en donde se forma una zona de color más claro; el color no cambia en los siguientes días.

Estructura interna: amorfa.

Caracteres ópticos: opaco.

Consistencia: cremosa.

Brillo: el cultivo es brillante.

Acción sobre el medio: ninguna.

Dimensiones: 5 a 9 mm.; a los 14 días aumentan ligeramente de tamaño las colonias; a los 35 días alcanzan 1 cm. o más.

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

Temperatura: 18° a 20° C.

Edad del cultivo: 6 días.

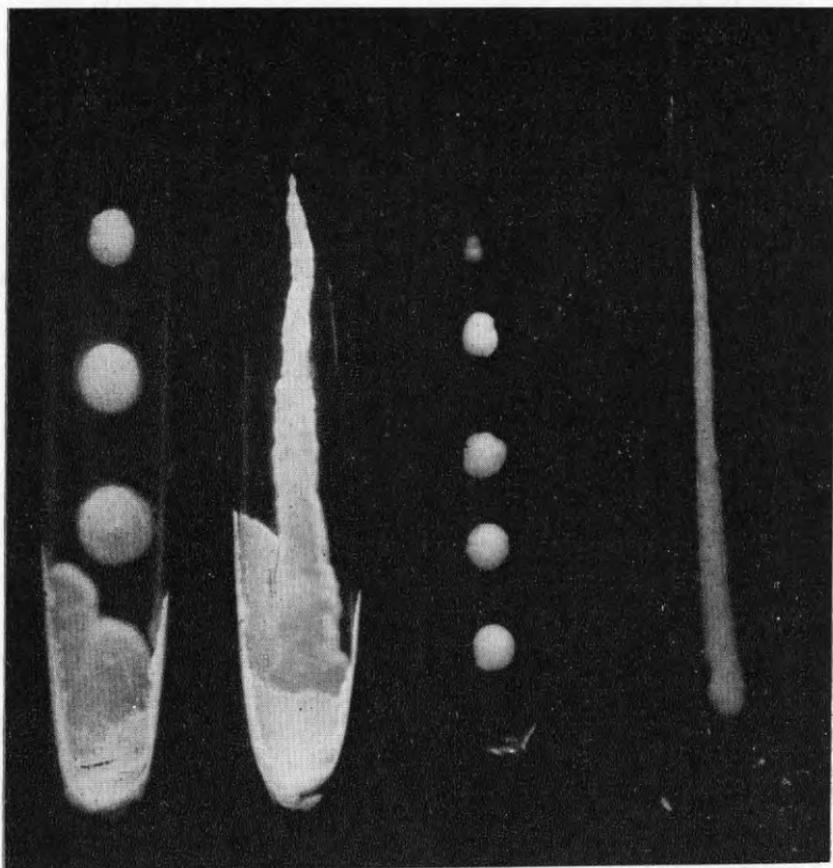


Fig. 1. Cultivos en placa y en estria de *Torulopsis famata* (12 días). Los dos tubos de la izquierda son de mosto agar y los dos de la derecha de extracto de malta gelatinado.

Forma: circular.

Superficie: lisa; así permanece durante algún tiempo, pero a los 30 días, en la parte central y en la periferia, se torna finamente arrugada.

Elevación de la superficie: levemente convexa; a los 34 días la parte central se torna cóncava y hundida.

Bordes: lisos en algunos sitios y levemente ondulados en otros; se conservan de la misma manera hasta los 35 días.

Color: blanco marfil.

Estructura interna: amorfa.

Caracteres ópticos: opaco.

Consistencia: viscosa.

Brillo: sin brillo; el cultivo tiene aspecto mate.

Acción sobre el medio: ninguna; a los 120 días una licuefacción muy leve.

Dimensiones: 3 a 5 mm. de diámetro a los 6 días; 5 a 10 mm. de diámetro en los días siguientes y así queda hasta los 35 días.

CULTIVOS EN ESTRIA

Mosto agar pH: 4.8

Temperatura: 25° C.

Edad del cultivo: 5 días.

Forma: a los 5 días la parte superior del cultivo presenta forma equinulada y la parte inferior es extendida; este aspecto se conserva durante el tiempo en que se observó el cultivo (35 días).

Superficie: lisa muy uniforme.

Elevación de la superficie: plana.

Bordes: irregularmente ondulados.

Color: moreno claro, siendo todavía más claro en los bordes, donde se forma una franja que destaca del resto del cultivo.

Estructura interna: amorfa.

Caracteres ópticos: opaco.

Consistencia: cremosa.

Brillo: toda la colonia es brillante.

Acción sobre el medio: ninguna.

Extracto de malta gelatinado pH: 5.0

Temperatura: 18° a 20° C.

Edad del cultivo: 6 días.

Forma: equinulada.

Superficie: se muestra lisa desde los 6 a los 34 días; después adquiere un aspecto finamente arrugado.

Elevación de la superficie: a los 6 días es plana, a los 14 días la parte central se hace ligeramente levantada, y a los 34 días toda la superficie del cultivo se hunde un poco.

Bordes: en algunos sitios enteros, en otros ondulados y aun los hay recortados.

Color: blanco marfil.

Estructura interna: amorfa.

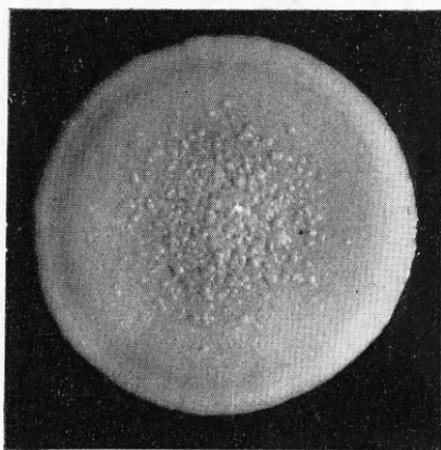


Fig. 2. Colonia gigante de *T. famata* en mosto agar (45 días).

Caracteres ópticos: opaco.

Consistencia: viscosa.

Brillo: ninguno.

Acción sobre el medio: ninguna; a los 3 meses una ligera licuefacción.

CULTIVOS EN PICADURA

En mosto agar y a 20°-25° C., desde los 5 días se observa un cultivo filiforme a lo largo del piquete; la superficie al principio es lisa y después se torna granulosa: los bordes son ondulados. El crecimiento es regular.

En extracto de malta gelatinado, a 18°-20° C., desde los 6 días se observa también un cultivo filiforme, con superficie y bordes semejantes a los de mosto agar. Asimismo, el crecimiento es regular.

CARACTERES DE LAS COLONIAS GIGANTES.

Mosto agar pH: 5.0

Temperatura: 18° a 20° C.

Edad del cultivo: 45 días.

Forma: circular muy regular.

Superficie: la parte central es granulosa; las granulaciones son bastante perceptibles y entre ellas se notan unas rugosidades; la parte periférica es lisa.

Elevación de la superficie: plana y ligeramente convexa.

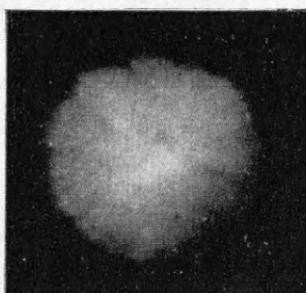


Fig. 3. Colonia gigante de *T. famata* en extracto de malta gelatinado (45 días).

Bordes: enteros.

Estructura interna: amorfa.

Color: moreno claro, siendo los bordes casi blancos.

Caracteres ópticos: opaca.

Consistencia: cremosa.

Brillo: sin brillo.

Dimensiones: 5 cm. de diámetro.

Extracto de malta gelatinado pH: 5.0

Temperatura: 18° a 20° C.

Edad del cultivo: 45 días.

Forma: circular muy regular.

Superficie: lisa; radialmente se esbozan en la periferia estrías muy finas.

Elevación de la superficie: ligeramente convexa.

Bordes: ligeramente ondulados.

Estructura interna: amorfa.

Color: blanco marfil.

Consistencia: viscosa.

Caracteres ópticos: opaca.

Brillo: ligeramente brillante.

Dimensiones: 6 a 7 cm. de diámetro.

CARACTERES MICROSCOPICOS DE LAS CELULAS

Extracto de malta pH: 4.7

Temperatura: 25° C.

Edad del cultivo: 48 horas.

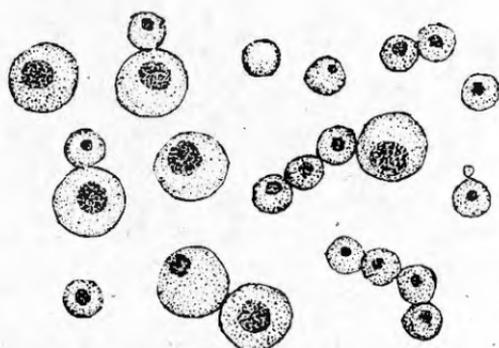


Fig. 4. Células de *Torulopsis famata* en extracto de malta (48 horas).

Forma: células esféricas muy regulares, pequeñas y medianas; a los 7 días aparecen algunas ligeramente ovales.

Agrupamiento: la mayoría aisladas y algunas en pequeñas cadenas irregulares.

Citoplasma: muy transparente y sin granulaciones.

Vacuolas: no se observan.

Grasa: en todas las células se observa un glóbulo de grasa; en la mayoría bastante grande y en otras más pequeño.

Reproducción: por brotes monopolares.

Ascas y ascosporas: no se observaron durante el tiempo en que se examinó el cultivo.

Dimensiones: las más pequeñas miden de 1 a 1.70 micras de diámetro; las medianas de 3.5 a 5 μ ; las más grandes de 6.5 a 8.5 μ , y las ovales 8.5 \times 10 μ .

Mosto agar pH: 4.8

Temperatura: 25° C.

Edad del cultivo: 24 horas.

Forma: células esféricas muy regulares; la mayoría de tamaño mediano.

Agrupamiento: la mayor parte se encuentran aisladas y muy pocas en cadena de 3 ó 4 células.

Citoplasma: muy transparente y sin granulaciones.

Vacuolas: no se observaron en la inmensa mayoría; de una manera excepcional existe una vacuola grande en algunas de ellas.

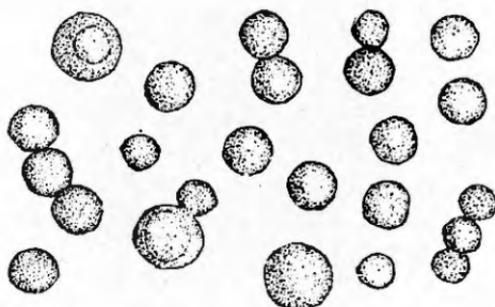


Fig. 5. Células de *T. famata* en mosto agar (24 horas).

Grasa: a las 24 horas no existen glóbulos de grasa; después de algunos días aparece uno en cada célula, generalmente de gran tamaño.

Reproducción: por brotes monopolares.

Ascas y ascosporas: no se observaron.

Dimensiones: las más pequeñas tienen 1.5 a 2 μ de diámetro; las medianas 3.5 a 4 μ y las más grandes 5.5 a 6 μ .

Extracto de malta gelatinado pH: 5.0

Temperatura: 18° a 20° C.

Edad del cultivo: 48 horas.

Forma: esférica muy regular.

Agrupamiento: aisladas.

Citoplasma: transparente, sin granulaciones.

Vacuolas: no se observaron.

Grasa: un solo glóbulo de grasa de tamaño mediano en las células grandes y uno pequeño en las de menores dimensiones.

Reproducción: en pocas células se observó la formación de brotes.

Ascas y ascosporas: no se observaron.

Dimensiones: 1.5 a 2 μ las pequeñas; 2.5 a 3 μ las medianas y 4.5 a 5.5 μ las grandes.

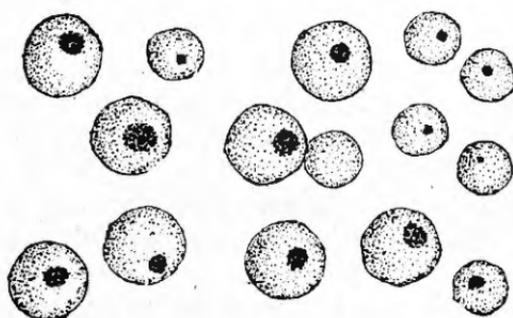


Fig. 6. Células de *T. famata* en extracto de malta gelatinado (48 horas).

ESPORULACION

Con objeto de lograr la esporulación se recurrió a muy distintos métodos y medios de cultivo recomendados al respecto, siendo los resultados completamente negativos en todos los casos.

CARACTERES BIOQUIMICOS

Licuefacción de la gelatina: a los 117 días se observó una ligera licuefacción; a los 4 meses todo el medio se licuó.

Fermentación de azúcares: poco intensa.

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

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

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

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

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

Alcohol etílico como fuente de carbono: a las 48 horas se forma un anillo blanquecino y en el fondo del tubo un sedimento escaso; en los días siguientes aumentan el anillo y el sedimento, y asimismo se enturbia el medio.

Desdoblamiento de la esculina: a las 24 horas se obtiene un resultado positivo. (No se utilizó arbutina por no haberse podido conseguir en México.)

Producción de compuestos semejantes al almidón: resultado negativo.

Producción de ésteres: resultado negativo.

Reacción en leche litmus: resultado negativo.

Desdoblamiento de la grasa: resultado positivo, aunque muy leve.

Producción de ácido: resultado negativo.

CLASIFICACION

Tomando en cuenta el libro de Lodder y Kreger-Van Rij, titulado "The Yeasts. A Taxonomic Study", 1952, la levadura que estudiamos pertenece al orden *Cryptococcales*, familia *Cryptococcaceae*, porque no forma esporas de ninguna clase (anascosporógena). Se coloca en el género *Torulopsis* por tener células con brote, carecer de pseudo-micelio y micelio verdadero, no dar pigmentos carotinoideos, tener células redondeadas, no formar compuestos semejantes al almidón, tener desasimilación oxidativa y fermentativa poco intensa, y en medio líquido (malt extract) formar sedimento, anillo y un velo mucoso brillante y delgado.

Pertenece asimismo a la especie *Torulopsis famata* (Harrison) Lodder y Kreger-Van Rij, por los siguientes caracteres: fermenta (débilmente) únicamente glucosa (L. M.) y asimila glucosa (L. M.), galactosa, sacarosa y maltosa.

Sin embargo, posee algunos caracteres un poco distintos de los descritos por los autores antes mencionados, pero los consideramos de tan poca importancia que estimamos no puede hacerse ni una nueva variedad.

RESUMEN

Se realizó el estudio de una cepa de *Torulopsis famata* (Harrison) Lodder y Kreger-Van Rij, aislada de la superficie del fruto del chile serrano verde (*Capsicum annuum*) de Papantla, Veracruz.

En extracto de malta forma sedimento, anillo y un velo mucoso, brillante y delgado; en mosto agar el cultivo en placa es circular, de superficie lisa, color moreno claro y más aún en los bordes, en donde se forma un anillo más claro; la elevación de la superficie es plana, los bordes lisos, y el cultivo es opaco, cremoso y brillante. En extracto de malta gelatinado, el cultivo en placa es circular, de superficie lisa, elevación ligeramente convexa, bordes lisos y a veces un poco ondulados, color blanco marfil, siendo el cultivo opaco, viscoso y sin brillo. En extracto de malta presenta células circulares con diámetros de 1 a 1.70μ , 3.5 a 5μ y de 6.5 a 8.5μ ; hay ovales de $8.5 \times 10\mu$.

No forma esporas, a los 117 días licua la gelatina; fermenta sólo glucosa (L. M.); asimila glucosa (L. M.), galactosa, sacarosa y maltosa, sulfato de amonio, peptona y asparagina; utiliza el alcohol etílico como fuente de carbono, desdobra la esculina y la grasa; no asimila el nitrato de potasio.

BIBLIOGRAFIA

- CIFERRI, R. and REDAELLI, P., 1929: Studies on the *Torulopsidaceae*. *Annals Mycologici*. Vol. XXVII. pp. 243-295.
- , 1935: Contribuzioni alla sistematica della *Torulopsidaceae*. *Archiv. Mikrobiol.* Vol. 6, pp. 9-72.
- DIDDENS, H. A., und LODDER, J., 1942: Die Anaskosporogenen Hefen. Sweite 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. Librairie 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., 1947: The Yeast-like fungi: *Candida* and *Brettanomyces*. Bacteriological Reviews. Vol. 11, pp. 227-274.
- , 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: Beitrage zu einer monographie der Hefearten. I Teil. Die Sporogenen Hefen. Amsterdam, pp. 1-547.