

ESTUDIO DE UNA NUEVA ESPECIE DE LEVADURAS DEL GENERO
TORULOPSIS BERLESE, AISLADAS DE LAS ESCAMAS
DE LA PIEL HUMANA

Por MANUEL RUIZ O.,
del Instituto de Biología.

Torulopsis orbiculata n. sp.

En el mes de enero de 1943, varios miembros del Instituto de Biología estuvimos en el pueblo de Tecamatlán, Estado de Puebla, haciendo diversas observaciones sobre la flora y la fauna del lugar, así como sobre los enfermos del mal del pinto. En dicha ocasión, tuvimos la oportunidad de hacer numerosos cultivos de las escamas de la piel de los enfermos del mal del pinto, obteniendo de los mismos, varias cepas de hongos y levaduras. Entre estas últimas hemos aislado cuatro o cinco especies distintas, una de las cuales, cuyo estudio presentaremos próximamente, tiene el enorme interés de mostrar una división por tabique transversal, quedando colocada, por lo mismo, seguramente dentro del género **Schizosaccharomyces**. De estas levaduras aisladas, presentamos en este trabajo el estudio de una nueva especie.

Purificación de los cultivos: por medio de cultivos sucesivos en mosto de cerveza adicionado de ácido láctico.

Aislamiento de la cepa pura: por el método de "pequeñas gotitas" de Lindner en glucosa peptonada y mosto de cerveza.

CARACTERES MACROSCOPICOS DE LOS CULTIVOS
EN MEDIOS LIQUIDOS

Mosto de cerveza

Temperatura: 25° C.

Velo: a los 5 días se comienza a integrar un velo que inicia su formación en la periferia y va cerrándose hacia el centro; es de as-

pecto mucoso, brillante y de color blanco cremoso. A los 15 días el velo aun no es completo, sino en forma de islotes pequeños o grandes, algunos de los cuales caen al fondo y otros quedan flotando en el medio. A los 25-30 días el velo es completo: mucoso, húmedo, brillante, delgado, de superficie granulosa y color avellana (Ridgway, Plate XL, 17'''-b).

Anillo: a las 48 horas se observa el esbozo de un anillo; a los 3 días dicho anillo ha completado su desarrollo, siendo muy fino, delgado, transparente y de color blanco grisáceo; a los 6 días se nota grueso y opaco; a los 15 días se desintegra en algunos sitios y se torna más delgado; sin embargo, en ciertas regiones queda grueso y allí toma un tinte crema-tilo (Ridgway, Plate XL, 17'''-f). A los 25-30 días se encuentra perfectamente bien formado, siendo ancho, grueso, opaco y de color avellana.

Depósito: a las 48 horas apenas se esboza el depósito; en los siguientes días va aumentando lentamente hasta llegar a los 20-30 días en que se observa muy abundante y de color avellana.

Fermentación: no se observa.

Enturbiamiento: en los primeros días el medio se nota bastante turbio, debido a numerosas colonias que flotan en el medio; después de 10 días ya no se observa dicho enturbiamiento.

Glucosa peptonada

Temperatura: 25° C.

Velo: en los primeros días del cultivo, no se nota la formación de velo; hasta los 20 días se integran en la superficie unos cuantos islotes blancos, pequeños o grandes. A los 30-40 días se ha formado un velo casi completo y de aspecto mucoso, húmedo, brillante, granuloso y de color blanco con un leve tono grisáceo.

Anillo: a los 5 días se empieza a esbozar un anillo muy fino, delgado y transparente; a los 8-10 días conserva los mismos caracteres y, en ningún caso aun después de 30 días, llega a ser completo.

Depósito: a los 15-20 días el depósito está poco desarrollado y de color crema-tilo (Ridgway, Plate XL, 17'''-f); a los 30 días el desarrollo es regular y a los 50 días es abundante.

Fermentación: no se observa.

Enturbiamiento: no se observa.

CARACTERES MACROSCOPICOS DE LOS CULTIVOS EN MEDIOS SOLIDOS

CULTIVOS EN PLACA

Mosto gelosado

Temperatura: 25° C.

Edad del cultivo: 12 días.

Forma: circular.

Superficie: lisa; a los 35 días finamente granulosa, especialmente en la periferia.

Elevación: convexa.

Bordes: enteros; a los 35 días finamente ondulados y dentados.

Color: avellana (Ridgway, Plate XL, 17'''-b); en la periferia es ligeramente más débil.

Caracteres ópticos: opaco.

Brillo: intenso.

Consistencia: cremosa o viscosa.

Acción sobre el medio: ninguna.

Dimensiones: 10-15 mm. diámetro.

Glucosa peptonada gelosada

Temperatura: 25° C.

Edad del cultivo: 12 días.

Forma: estrellada, amiboide o irregular; a partir de una región circular u oval, se forman radiaciones delgadas y largas, o gruesas y cortas, regulares o irregulares, que dan los aspectos anteriores.

Superficie: lisa.

Elevación: convexa.

Color: crema-tilo (Ridgway, Plate XL, 17'''-f); a los 35 días crema-vinoso (Ridgway, Plate XL, 17'''-d).

Caracteres ópticos: opaco.

Brillo: intenso.

Consistencia: viscosa.

Acción sobre el medio: ninguna.

Dimensiones: 10-12 mm. contando las radiaciones.

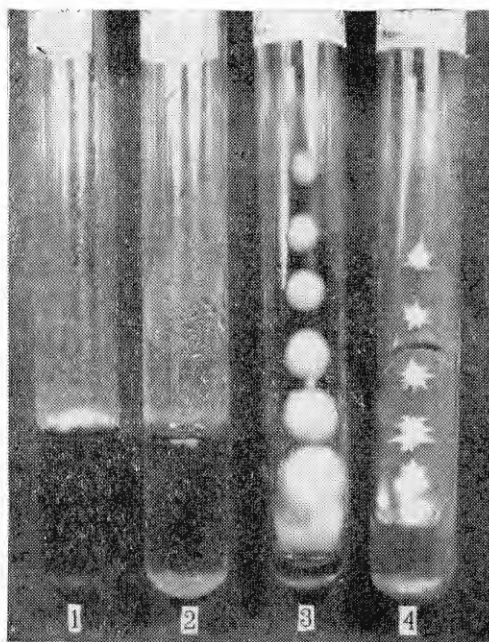


Fig. 1.—Aspecto de los cultivos de *Torulopsis orbiculata* n. sp. en medios líquidos y sólidos (20 días). 1.—Mosto de cerveza; 2.—Glucosa peptonada; 3.—Mosto gelosado; 4.—Glucosa peptonada gelosada.

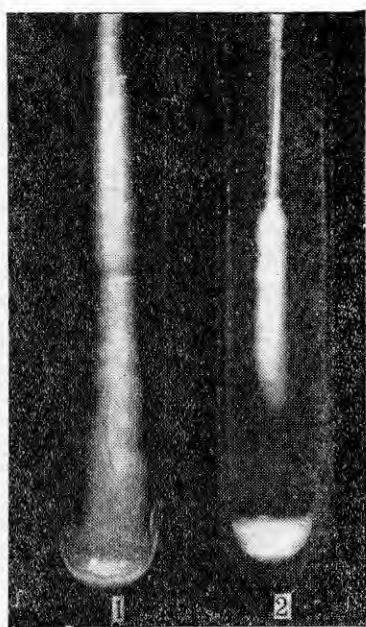


Fig. 2.—Cultivos en estría de *Torulopsis orbiculata*. 1.—Mosto gelosado; 2.—Glucosa peptonada gelosada (12 días).

Mosto gelatinado

Temperatura: 18°-20° C.

Edad del cultivo: 9 días.

Forma: circular.

Superficie: lisa.

Elevación: completamente extendida y aun hundida en el medio debido a la licuefacción.

Bordes: lisos.

Color: avellana.

Caracteres ópticos: transparente y opalescente.

Brillo: muy intenso.

Consistencia: viscosa.

Acción sobre el medio: a los 4 días se inicia la licuefacción en el sitio donde está el cultivo y pocos días después todo el medio sufre dicha acción.

Dimensiones: 9-11 mm. diámetro.

Glucosa peptonada gelatinada

Temperatura: 18°-20° C.

Edad del cultivo: 8 días.

Forma: circular.

Elevación: umbilicada; el cultivo se hunde por su parte central en el medio, debido a la licuefacción.

Bordes: apenas se nota a simple vista que son finamente aserrados.

Color: crema-tilo.

Caracteres ópticos: opaco en el centro; opalescente en la periferia.

Brillo: intenso.

Consistencia: viscosa.

Acción sobre el medio: licuefacción que se inicia a los tres días; a los 8 días es completa.

Dimensiones: 6-7 mm. diámetro.

CULTIVOS EN ESTRIA

Mosto gelosado

Temperatura: 25° C.

Edad del cultivo: 10 días.

Forma: extendida.

Superficie: lisa o levemente ondulada debido a algunas estrías muy finas que se forman de la periferia al centro.

Elevación: ligeramente convexa.

Bordes: levemente ondulados.

Color: crema- vinoso (Ridgway, Plate XL, 17'''-d).

Brillo: intenso.

Consistencia: viscosa.

Mosto gelatinado

Temperatura: 18°-20° C.

Edad del cultivo: 11 días.

Forma: levemente extendida.

Superficie: lisa.

Elevación: hundida en el medio por la licuefacción.

Bordes: lisos y en algunos sitios ondulados.

Color: crema- vinoso.

Brillo: intenso.

Consistencia: viscosa.

Acción sobre el medio: licuefacción.

Glucosa peptonada gelosada

Temperatura: 25° C.

Edad del cultivo: 10 días.

Forma: extendida en la región media basal y filiforme en la región media superior.

Superficie: lisa.

Elevación: plana.

Bordes: lisos o levemente ondulados.

Color: blanco lechoso; después se torna crema-vinoso.

Brillo: intenso.

Consistencia: viscosa.

Glucosa peptonada gelatinada

Temperatura: 18°-20° C.

Edad del cultivo: 10 días.

Forma: un poco extendida.

Superficie: lisa.

Elevación: extendida y un poco hundida en el medio debido a la licuefacción.

Bordes: lisos.

Color: blanco con un tono ligeramente grisáceo.

Brillo: intenso.

Consistencia: viscosa.

Acción sobre el medio: licuefacción.

CULTIVOS EN PICADURA

Glucosa peptonada gelatinada

Temperatura: 18°-20° C.

Edad del cultivo: 10 días.

Forma del crecimiento: filiforme.

Caracteres ópticos: muy transparente, al grado de que apenas se distingue el cultivo dentro del medio.

Acción sobre el medio: licuefacción.

Color: blanco.

Desarrollo: a los 5 días el crecimiento se empieza a notar a lo largo del piquete, siendo muy raquítico aun a los 30 días. En la superficie, el desarrollo es rápido, pero a los 4 días la colonia se comienza a hundir en el medio debido a la licuefacción.

En los demás medios de cultivo empleados, no se obtuvo desarrollo a lo largo del piquete, sino solamente en la superficie del medio. En mosto gelatinado la licuefacción es tan rápida que no se logró cultivo en picadura.

CARACTERES DE LAS COLONIAS GIGANTES

Mosto gelosado

Temperatura: 18°-20° C.

Edad del cultivo: 40 días.

Forma: circular.

Superficie: lisa; se forman varias estrías radiales del centro a la periferia, pero apenas si son visibles a simple vista.

Elevación: ligeramente convexa; en el centro se eleva un poco más.

Color: avellana.

Caracteres ópticos: opaco.

Bordes: enteros o levemente ondulados.

Brillo: regular.

Consistencia: mucilaginoso.

Dimensiones: 38 mm. diámetro.

Glucosa peptonada gelosada

Temperatura: 18°-20° C.

Edad del cultivo: 45 días.

Forma: arborescente, o sea, con gran número de prolongaciones radiales que a su vez tienen ramificaciones laterales más pequeñas.

Superficie: convexa.

Color: en el centro color avellana, en la periferia crema-tilo.

Bordes: laciniados.

Brillo: muy intenso.

Consistencia: mucilaginoso.

Dimensiones: 35 mm. contando las ramificaciones.

En mosto gelatinado y glucosa peptonada gelatinada, no fué posible obtener colonias gigantes debido a que en pocos días se licúan los medios de cultivo.

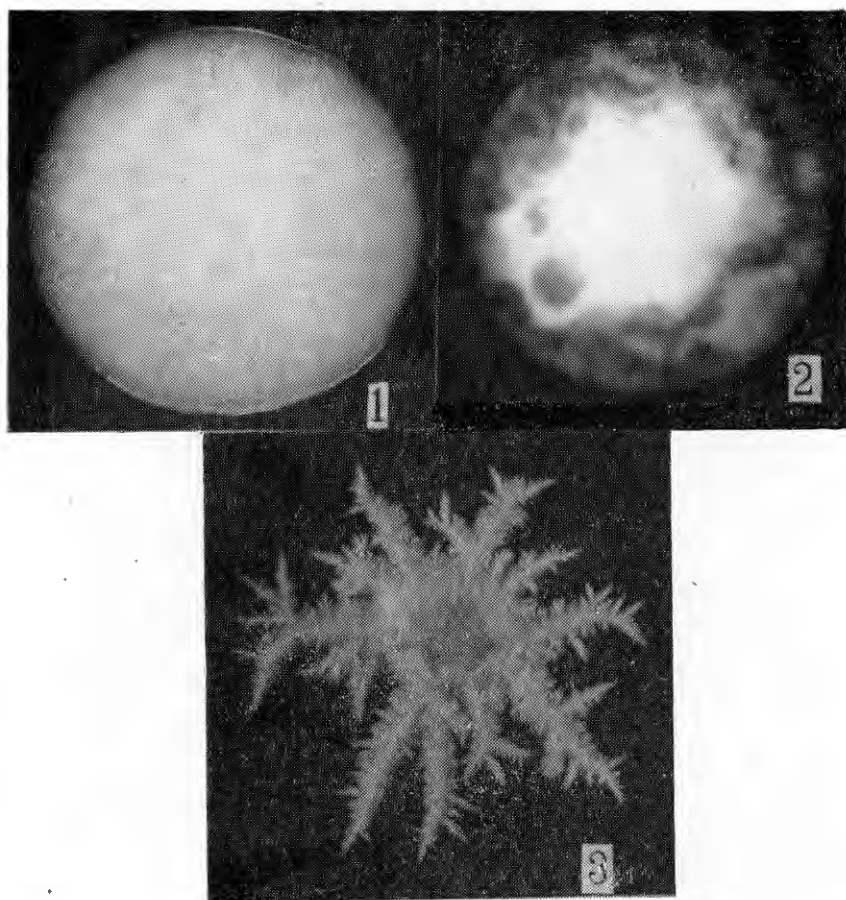


Fig. 3.—Colonias gigantes de *Torulopsis orbiculata*. 1.—Mosto gelosado (40 días). 2.—mosto gelatinado (15 días). 3.—Glucosa peptonada gelosada (45 días).

CARACTERES MICROSCOPICOS DE LAS CELULAS

Mosto de cerveza

Temperatura: 25° C.

Edad del cultivo: 48 horas.

Forma: completamente circular, conservándose así por todo el tiempo que se tuvo el cultivo (60 días).

Agrupamiento: aisladas en su mayoría, algunas en pares y muy pocas en cadenitas de 3 a 5 células; a los 60 días conservan estos caracteres.

Reproducción: por un solo brote que se forma en cualquier sitio de la superficie; después de los 20 días aparecen algunas células con dos brotes.

Citoplasma: oscuro y muy granuloso; así se conserva siempre.

Grasa: todas las células poseen varios o numerosos glóbulos de grasa muy pequeños, que hacen granuloso al citoplasma; después de 20 días el número de glóbulos ha aumentado y en la mayoría de las células se observa que varios de ellos se disponen con gran regularidad, en forma de un círculo colocado cerca de la membrana, y los demás quedan repartidos irregularmente dentro de ese círculo. Después de 35 días, algunos glóbulos se notan más grandes.

Vacuolas: en los primeros días no se observan y sólo hasta los 20 días aparecen en algunas células una o varias vacuolas pequeñas; después de los 35 días algunas vacuolas se notan más grandes.

Gránulos metacromáticos: no se identificaron.

Ascas y ascosporas: no se forman.

Dimensiones: de 4 a 6 micras de diámetro; muy pocas de menores o de mayores dimensiones (3, 7 y 8 micras de diámetro). A los 10, 15, 20, 30 y 60 días tienen las mismas dimensiones.

En glucosa peptonada las células muestran caracteres muy semejantes a los anotados anteriormente, con las siguientes diferencias: 1.—Algunas células son ovales; 2.—A los 30 días se notan muchas reunidas en pares; 3.—A los 50 días se observan algunas con tres brotes; 4.—A los 40-50 días existen algunas células con 7, 8 y 9 micras de diámetro.

Mosto gelosado

Temperatura: 25° C.

Edad del cultivo: 48 horas.

Forma: circulares y algunas ligeramente ovales; en los siguientes días llegan a desaparecer las formas ovales.

Agrupamiento: aisladas; muy pocas en pares.

Reproducción: por brotes que en número de uno se forman en cualquier lugar de la superficie; a los 20-30 días aparecen algunas con dos brotes.

Citoplasma: hialino y transparente; poco granuloso; después de 8 días se torna oscuro y muy granuloso.

Vacuolas: en la mayoría de las células no se observan; en algunas se notan una o dos vacuolas pequeñas, apenas distintas del protoplasma.

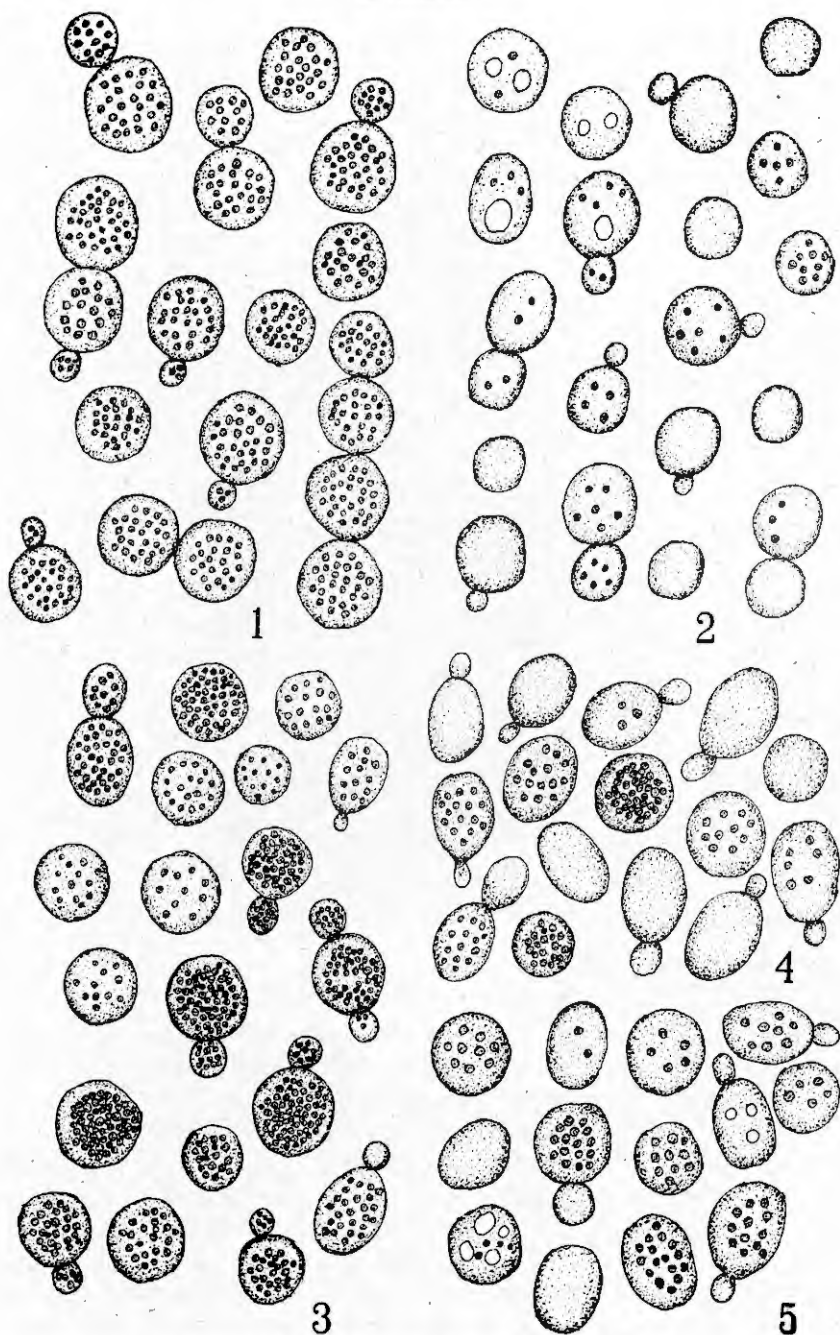


Fig. 4.—Células de *Torulopsis orbiculata* en diversos medios de cultivo. 1.—Mosto de cerveza (48 horas). 2.—Mosto gelosado (48 horas). 3.—Glucosa peptonada (8 días). 4.—Glucosa peptonada gelatinada (3 días). 5.—Mosto gelatinado (5 días).

Grasa: en los primeros días se observan glóbulos de grasa en pocas células; después de 8 días muestran las células numerosos glóbulos y se disponen como en las células de los cultivos de mosto de cerveza.

Gránulos metacromáticos: no se identificaron.

Ascas y ascosporas: no se forman.

Dimensiones: 3.5 a 6 micras de diámetro; algunas con menores o mayores dimensiones.

En los demás medios de cultivo empleados, los caracteres de las células son semejantes a los ya citados anteriormente, con las siguientes diferencias:

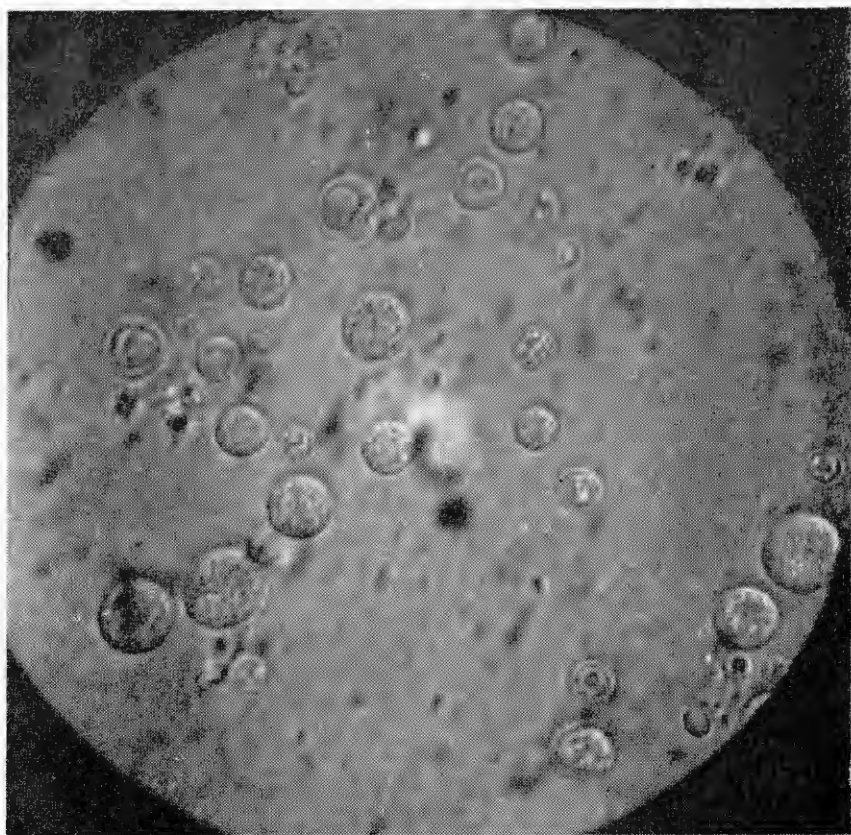


Fig. 5.—Microfotografía de las células de *Torulopsis orbiculata* en mosto gelosado (30 días).

Glucosa peptonada gelosada: 1.—A los 20 días se notan muchas células unidas en pares; 2.—Entre los 20-30 días algunas células muestran dos y tres brotes; 3.—Dimensiones: 4-4.5 y 5 micras de diámetro.

Mosto gelatinado: 1.—En los primeros días del cultivo se notan numerosas formas ovales que después van desapareciendo hasta quedar solamente las de forma circular; 2.—No se observan agrupamientos en pares de las células, ni en mayor número; todas se encuentran aisladas; 3.—Desde el principio del cultivo se observan en algunas células una o varias vacuolas muy pequeñas y apenas distintas al protoplasma; después de los 15 días, en la mayoría de las células existe una vacuola muy grande que ocupa casi todo el protoplasma; 4.—Dimensiones: esféricas de 3.5 a 5 micras de diámetro; ovales de 4 a 5 micras de longitud por 3.5 a 4.5 de anchura; a los 50 días se notan algunas de 8 a 10 micras de diámetro.

Glucosa peptonada gelatinada: 1.—En los primeros días de cultivo, la mayoría de las células son ovales y pocas esféricas, pero después van desapareciendo las formas ovales hasta quedar únicamente las circulares; 2.—No se observaron vacuolas durante todo el tiempo que se tuvo el cultivo; 3.—Dimensiones: ovales (3.5-4) \times (4-4.5) micras; esféricas: 3.5 a 5 micras de diámetro.

CARACTERES BIOQUIMICOS

Licuefacción de la gelatina: positiva; desde los tres a cinco días, en todos los medios gelatinados empieza la licuefacción del medio; a los 15 días dicha licuefacción es completa.

Fermentación de los azúcares: completamente negativa.

Elección de los azúcares.

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

Asimilación del nitrógeno:

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

Alcohol etílico como substrato de crecimiento: mal substrato; aun a los 20 días, el desarrollo es muy raquítico.

CLASIFICACION

Por sus caracteres genéricos, esta especie de levadura, cuyo estudio presentamos, queda colocada en el género **Torulopsis** Berlese. En cuanto a la especie y tomando en cuenta la clasificación que hace Lodder en su monografía: *Die Anaskosporogenen Hefen*, queda colocada dentro del grupo que comprende a las levaduras que no efectúan fermentación de los azúcares y en el subgrupo de las que sí asimilan el nitrato de potasio. Entre las especies descritas que figuran en este subgrupo, ninguna corresponde por sus caracteres específicos a la levadura que estudiamos en este trabajo y por lo mismo creemos que se trata de una especie nueva, para la cual proponemos el nombre específico de **Torulopsis orbiculata** n. sp., tomando en cuenta que la forma de sus células en todos los cultivos es fundamentalmente circular.

Se propone entonces la creación de una nueva especie de levadura del género **Torulopsis** Berlese, cuyos caracteres esenciales son los siguientes:

Torulopsis orbiculata n. sp.: fungus exceptus **Tecomatlani**, Pueblae, ex squamis pellis morbo **mal del pinto** vocato laborantium; in liquidis sedimentum format, anulum, postque aliquod tempus velum mucosum et nitentem; in solidis coloniae orbiculatae, superficie laevi, prominentia plana vel convexa, marginibus integris vel undulatis, avellanae colore, opacae, nitidae et viscosae. Cellulae orbiculatae 4-6 micrarum diametro, singulae vel binae, germine se multiplicantes, protoplasmate granuloso multisque adipis globulis. Paucis (5-10) diebus gelatinam liquefacit; fermenti vi caret; respirat dextrosam (L.M.), saccharosam et maltosam, haud galactosam nec lactosam; adhibet pro assimilatione nitrogeni nitratum potasicum, sulphatum amonii, peptonam et uream, haud asparaginam. Ascas non gignit.

SUMMARY

In this paper a new species of anaskosporogenous yeast is described in the genus **Torulopsis** Berlese. It is considered as a new species under the name **Torulopsis orbiculata** n. sp. because in all cultures the cells show a very uniform circular shape. This yeast was isolated in Tecamatlán, Pue., Mexico, from the scales of the skin of patients suffering from "mal del pinto".

The fundamental characters of **Torulopsis orbiculata** n. sp. are:

1.—Culture in beer-wort: after 48 hours at 25° C. a small sediment appears, which in 20-30 days becomes very abundant and takes an avellanus color (Ridgway, Plate XL, 17''-b); after 3 days a thin transparent ring is formed; after 5 days a mucous, humid and transparent veil begins to form and is completed in 25-30 days, with a granular surface and avellanus color. At the same temperature, after 48 hours, circular

cells 4 to 6 micra in diameter are formed, either isolated or in pairs, with only one bud, granular protoplasm and abundant fat droplets.

2.—Culture in wort-agar: after 12 days at 25° C. circular colonies are formed, with smooth surface, convex elevation, entire borders, avellanous, brilliant, not translucent and of mucilaginous texture. After 48 hours at the same temperature cells are formed similar to those obtained in beer-wort.

3.—Streak culture: in wort-agar after 10 days at 25° C. colonies show an expanded form, with smooth or slightly undulated surface, convex elevation, finely undulated borders, vinaceous-buff in color (Ridgway, Plate XL, 17''-d) brilliant and mucilaginous.

4.—Giant colonies: In wort-gelatin no giant colonies can be obtained because of the early liquefaction of the medium. In wort-agar at 18°-20° C. after 40 days the giant colonies are circular and of avellanous color.

5.—Asci and ascospores: are not formed.

6.—Liquefaction of gelatin: results clearly positive; process begins after 3 days.

7.—Fermentation: does not ferment any sugar.

8.—Selectivity to sugars:

Dextrose	+	Saccharose	+
Levulose	+	Maltose	+
Manose	+	Lactose	—
Galactose	—		

9.—Assimilation of nitrogen:

Potassium nitrate	+	Peptone	+
Amonium sulphate	+	Asparagine	—
Urea	+		

10.—Ethyl alcohol as substratum for development: unfavorable; even after 20 days development is scanty.

BIBLIOGRAFIA

CIFERRI, R. y READELLI, P.—1935.—Monografía della **Torulopsidaceae** a pigmento rosso.—Atti dell'Ist. Bot. R. Univ. Pavia, vol. II, pp. 147-303.

———1935.—Contribuzioni alla sistematica della **Torulopsidaceae**.—Archiv. Mikrobiol., vol. 6, pp. 9-72.

GUILLIERMOND, A.—1920.—The Yeasts.—Translated by F. Tanner.—John Willey and Sons, New York, pp. 1-424.

———1928.—Cléf dichotomique pour le determination des levures.—Libraire Le Francois, Paris, pp. 1-124.

HENRICI, A. T.—1941.—The Yeasts: Genetics, Cytology, Variation, Classification and identification.—Bacteriological Reviews, vol. 5, pp. 97-179.

LANGERON, M. et GUERRA, P.—1932.—Nouvelles recherches de zymologie medicale.—Ann. Parasit., t. 16, pp. 36-84, 162-179, 429-476, 481-525.

LODDER, V.—1934.—Die Hefesammlung des "Centraalbureau voor Schimmelcultures". Beitrage zu einer monographie der Hefearten II Teil. Die Anaskosporogenen Hefen. Erste Halfte. Amsterdam, pp. 1-256.

STANTIAL, H.—1935.—The sporulation of yeasts.—Trans. Roy. Soc. Canada 29, Sect. III, pp. 175-188.