

ESTUDIO MICOLOGICO DE LAS ZOOGLEAS CONCCIDAS VULGARMENTE CON EL NOMBRE DE TIBICOS

Por MANUEL RUIZ O., del Instituto de Biología.

El tibico es originario de nuestro país; erece sobre los artículos de diferentes especies de *Opuntia*, y se presenta en forma de masas globulosas, transparentes, muy semejantes en apariencia a los granos de arroz cocido. (Fig. 1.)

Puesto el tibico en presencia de agua azucarada, determina una fermentación activa del medio, produciendo un líquido de olor penetrante, sabor ácido y color amarillento, conocido con el nombre de vinagre de tibico, muy empleado en economía doméstica. Asimismo, se emplea para hacer bebidas refrescantes.

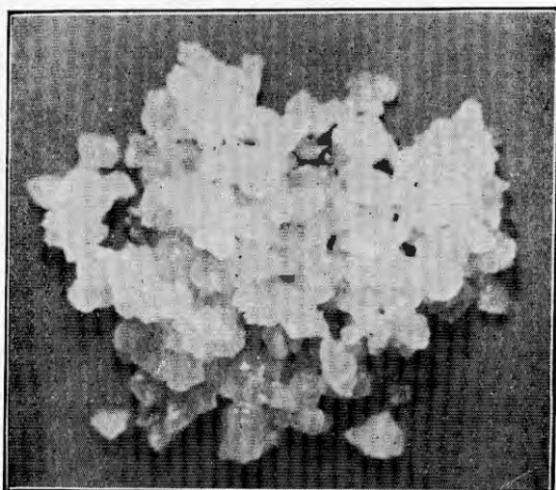


Fig. 1.—Aspecto de los tibicos obtenidos de la *Opuntia*.

Dejando el líquido fermentado en reposo durante cierto tiempo, se nota la formación en su superficie de zooglyphs de color blanco puro, que encierran enormes cantidades de bacilos, y en número menor, células de levaduras.

En 1899, Lutz estudió por primera vez el tibico, haciendo la determinación de un bacilo (*Bacillus mexicanus*) y de una levadura (*Saccharomyces Radaisii*).

Con referencia a la parte micológica de los trabajos de Lutz, creemos que es incompleta, por lo cual hemos estimado necesario rehacer el estudio exclusivamente desde este punto de vista, sin ocuparnos de la parte bacteriológica.

CARACTERES MACROSCOPICOS DE LA VEGETACION EN MEDIOS LIQUIDOS

Aunque hay varios medios líquidos que se pueden emplear para este objeto, el más apropiado y recomendado es el mosto simple, que fue el que preferentemente usamos en nuestro estudio. Así, haciendo un cultivo de las levaduras en este medio, se observa que a las 24 horas se produce un velo muy tenue en la superficie del líquido, al mismo tiempo que se nota la aparición de un ligero anillo en las paredes del tubo. A las 48 horas el velo y el anillo se han hecho más visibles y comienza a formarse un depósito en el fondo del tubo. El velo se hace cada vez más espeso hasta llegar a alcanzar su máximo en el término de 4 ó 5 días, al cabo de los cuales comienza a desaparecer con mucha lentitud, hasta hacerlo completamente. Al

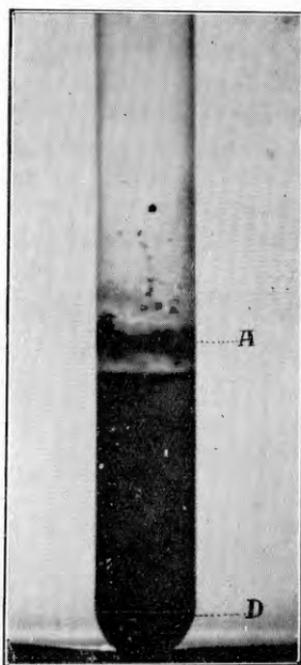


Fig. 2.—Cultivo de levaduras de un mes 15 días en tubo de mosto simple. (A, anillo; D, depósito.)

mismo tiempo que empieza a desaparecer el velo, el anillo y el depósito se van espesando cada vez más y aun después de un mes y medio de hecho el cultivo el anillo aparece muy característico, habiéndose elevado por las paredes del tubo, siendo el depósito, por otra parte, muy considerable. (Fig. 2.)

CARACTERES MACROSCOPICOS DE LOS CULTIVOS EN MEDIOS SOLIDOS

Se sembró la levadura en diferentes medios sólidos y al cabo de 10 días, las colonias adquieren un tamaño bastante para que se puedan estimar sus caracteres, que son como sigue: (Fig. 3.)

1º Medio de Gorodkowa. Color blanco grisáceo, aspecto húmedo y brillante. La colonia se extiende por todo el medio de cultivo.

2º Gelatina. Color blanco rojizo en la periferia, con el centro rosado; aspecto húmedo y brillante, tendiendo a hundirse en el medio de cultivo, afectando así la colonia la forma de un embudo.

3º Medio de Sabouraud. Color blanco rojizo; aspecto húmedo, brillante, y con los bordes ondulados. Adquiere una forma globosa muy regular.

4º Caldo gelosado. Color blanco rojizo; aspecto húmedo, brillante, y con bordes ligeramente recortados. Forma globosa semejante a la anterior, pero la colonia es más pequeña; además, se forman radios que van del centro a la periferia.

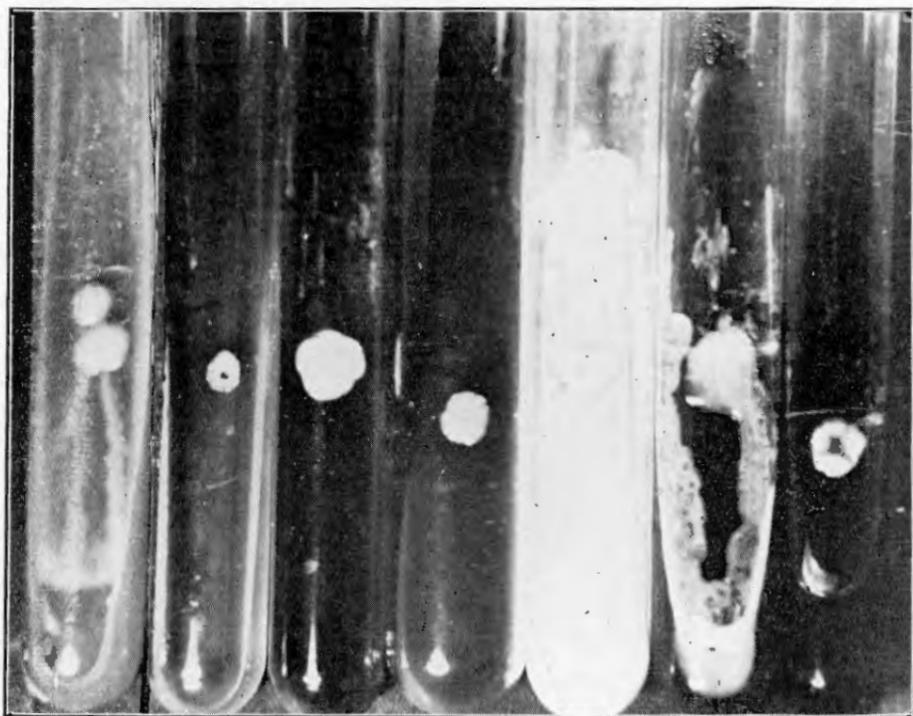


Fig. 3.—Aspecto de los cultivos en diferentes medios sólidos. 1, Gorodkova; 2, gelatina; 3, Sabouraud; 4, caldo gelosado; 5, medio a base de almidón soluble (según fórmula del profesor Langeron); 6, mosto gelosado; 7, mosto gelatinizado.

5º Medio a base de almidón soluble (según fórmula del profesor Langeron). Color rojizo; aspecto húmedo y brillante; forma irregular tendiendo a extenderse por todo el medio de cultivo y por las paredes del tubo.

6º Mosto gelosado. Color grisáceo, aspecto húmedo y brillante; forma irregular extendiéndose la colonia por todo el medio de cultivo y por las paredes del tubo.

7º Mosto gelatinizado. Color blanco rojizo muy tenue; aspecto húmedo y brillante. La colonia tiende a hundirse en el medio de cultivo, adoptando una forma semejante a la obtenida en gelatina.

Con el tiempo, todos los cultivos adquieren un color rosa muy característico.

Los cultivos se desarrollan más en mosto gelosado, siguiendo en orden decrecien-

te, los obtenidos en Gorodkowa, Sabouraud, medio a base de almidón soluble, mosto gelatinizado, caldo gelosado y gelatina.

Se obtuvo, asimismo, un cultivo en papa glicerizada en donde se formó una colonia de color rosa y de aspecto seco, opaco y consistente; no se extiende por el medio de cultivo, sino que se van formando capas o estratos superpuestos visibles a simple vista y que van aumentando la altura de la colonia.

COLONIAS GIGANTES

Cultivándose la levadura en cajas de Petri con mosto gelosado, se obtiene al cabo de un mes una colonia gigante en la cual se pueden apreciar perfectamente sus caracteres macroscópicos: forma muy regular, arredondada y globosa; color café amarillento, formándose en la periferia una faja muy delgada y regular de color rosado; su aspecto es húmedo y brillante. (Fig. 4.)

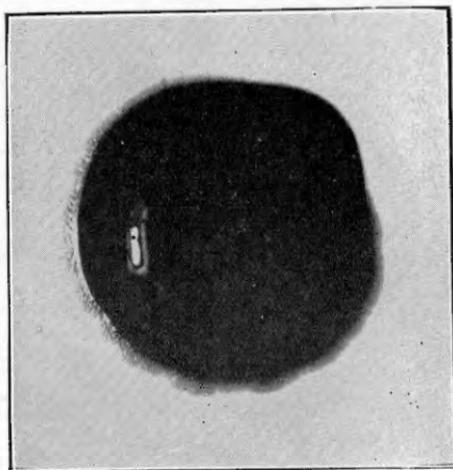


Fig. 4.—Aspecto de una colonia gigante de dos meses diez días, obtenida en caja de Petri de mosto gelosado.

CARACTERES MICROSCOPICOS

De un cultivo de mosto simple, de 48 horas, se hicieron observaciones para determinar la forma, dimensiones y modo de reproducción de las levaduras. Su forma es muy regular, alargada y ovoide, teniendo las siguientes dimensiones: de 6 a 8.5 micras de longitud, por 3 a 5 micras de anchura. (Fig. 5.)

Poseen las células en su interior un gran número de corpúsculos de naturaleza grasosa, como lo demuestra el hecho de teñirse en rojo por el Sudán III alcohólico.

Su reproducción es por gemación, ya que se observa con toda claridad cómo se comienza a formar en la extremidad de las células un pequeño brote, que va creciendo, adquiere un tamaño regular, hasta separarse completamente de la célula madre.

Para poner en evidencia el núcleo, se hicieron varios frotis de las levaduras cultivadas en mosto simple y se tiñeron con hematoxilina férrica; de esta manera

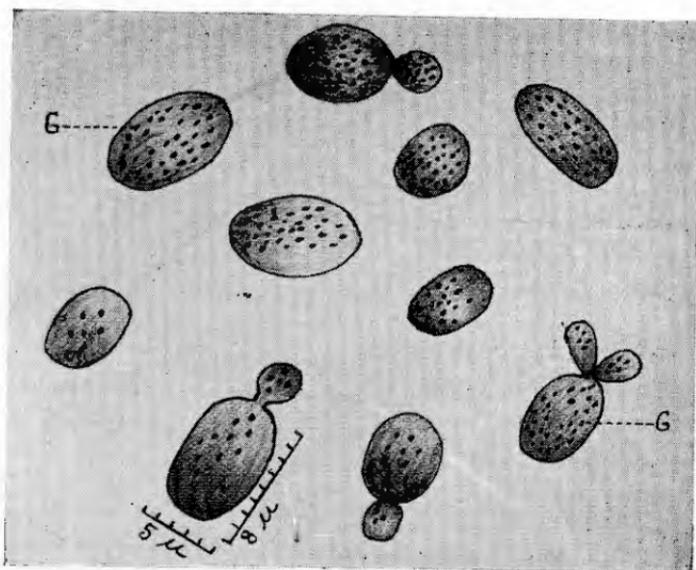


Fig. 5.—Levaduras de un cultivo de 48 horas en mosto simple. (G, corpúsculos grasosos.)

el núcleo se destaca del cuerpo de la célula por su color obscuro muy acentuado; su forma es esférica o ligeramente oval; tiene de 1.5 a 2 micras de diámetro; excepcionalmente pasa de estas dimensiones. (Fig. 6.)

Las levaduras cambian de forma y dimensiones según el medio en que se cultivan y según la edad del cultivo:

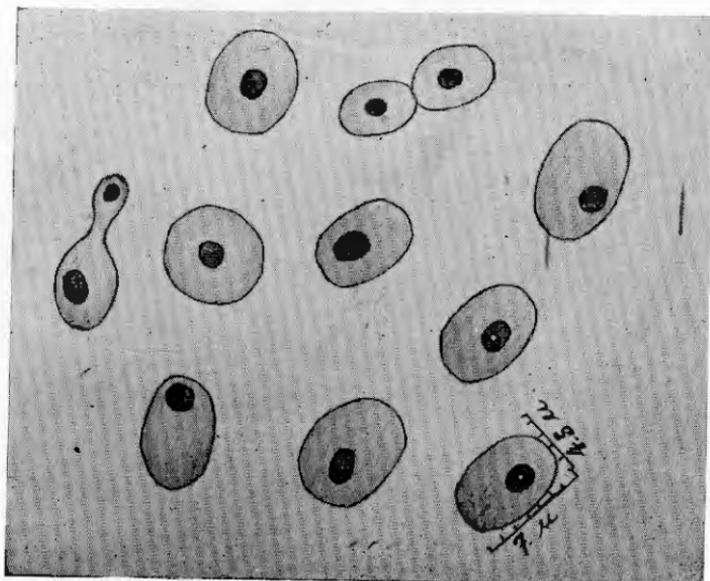


Fig. 6.—Levaduras de un cultivo de mosto simple mostrando su núcleo.

En mosto gelosado tienen forma y dimensiones semejantes a las obtenidas en mosto simple.

En medio de Gorodkowa se transforman en ascas, cambiando de forma, la que se hace algo irregular, adquiriendo mayor tamaño que el normal; tienen muy pocas granulaciones de grasa.

En Sabouraud, su forma se hace muy regular: redondeada y ovoide; sus dimensiones varían entre 5.5 a 8 micras de longitud por 3 a 5 micras de anchura; no poseen corpúsculos grasos.

En medio a base de almidón soluble, su forma es muy variada: alargada, elipsoide, redondeada y ovoide; sus dimensiones son semejantes a las obtenidas en mosto simple; poseen corpúsculos de grasa.

En gelatina, su forma es esférica y ovoide; las dimensiones no varían; tienen pocas granulaciones grasosas.

En caldo gelosado su forma es muy regular, siendo esférica, excepcionalmente ovoide; algunas se transforman en ascas con 1 ó 3 ascosporas en su interior; sus dimensiones son normales, teniendo pocas granulaciones grasosas.

En papa glicerizada, su forma es alargada, elipsoide y esférica; sus dimensiones, de 6 a 9 micras de longitud, por 4 a 6 micras de anchura.

En mosto gelatinizado, adquieren forma y dimensiones semejantes a las obtenidas con mosto simple.

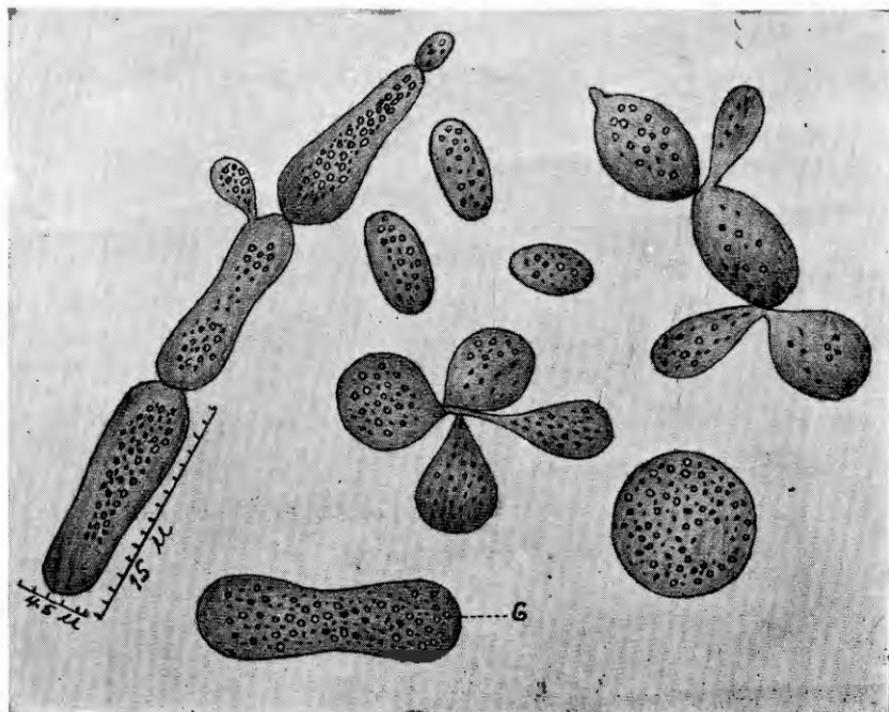


Fig. 7.—Levaduras de un cultivo de mosto simple de 3 meses 15 días. (G, corpúsculos de grasa.)

Como se expresó anteriormente, también cambian la forma y las dimensiones de las células con la edad del cultivo. Observando células de un cultivo de mosto simple de tres meses quince días, se nota que han adquirido formas y dimensiones muy variadas e irregulares. Unas células son esféricas, otras alargadas, ovoides, elipsoides, etc., y en cuanto a sus dimensiones, algunas conservan las normales, pero otras llegan a tener hasta 15 ó 20 micras de longitud. Poseen infinidad de corpúsculos grasos de gran tamaño. (Fig. 7.)

CARACTERES BIOQUIMICOS

Se examinó si la levadura fermenta los diferentes azúcares, empleándose para ello el método de las pequeñas fermentaciones de Lindner y experimentándose con la maltosa, saracosa, sucrosa, manosa, levulosa, galactosa y glucosa, pero con ninguna se obtuvo el menor indicio de fermentación.

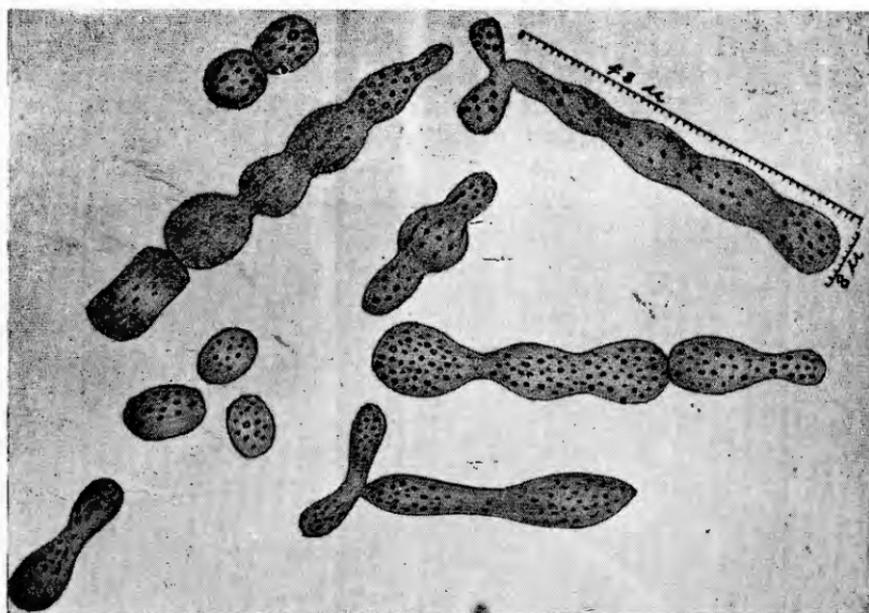


Fig. 8.—Levaduras de un cultivo en mosto gelosado a la temperatura máxima del brote.

TEMPERATURAS LIMITES Y OPTIMAS PARA EL BROTE Y PARA LA FORMACION DEL VELO

Haciendo una siembra de las levaduras en tubo de mosto gelosado y colocándolo en la estufa a 40°, no se obtuvo ningún desarrollo; pero probando con temperaturas más bajas, como 35° y 37°, se obtiene al cabo de 3 ó 4 días una colonia visible macroscópicamente; ya a 39° no se obtiene ningún brote; por lo mismo, podemos asentar que la temperatura máxima para el brote está situada entre 37° y 38°.

Las levaduras obtenidas a esta temperatura adoptan formas y dimensiones muy irregulares, y uniéndose unas con otras llegan a tener hasta 50 micras de longitud. Poseen en su interior infinidad de corpúsculos de grasa. (Fig. 8.)

Por lo que respecta a la determinación de la temperatura mínima para el brote, solamente se hicieron pruebas a temperaturas de -2° , 0° y 1° , no obteniéndose ningún brote. Para calcular la temperatura óptima se hicieron siembras en tubos de mosto gelosado a 17° , 20° , 23° , 24° y 26° ; después de cinco días se observaron los diferentes cultivos, y estando sensiblemente más desarrollados los que se obtuvieron a 22° y 23° , se deduce que esta es la temperatura óptima para el brote.

La temperatura máxima para la formación del velo está entre 35° y 36° ; la óptima, entre 22° y 24° , y por lo que respecta a la mínima, únicamente se experimentó con 0° y 2° , no formándose ningún velo ni anillo.

FORMACION DE ASCAS Y ASCOSPORAS

Para obtener la esporulación se sembró la levadura en medio de Gorodkova y en papa glicerizada. A las 24 horas, en Gorodkova y a una temperatura de 20° , faltándoles a las levaduras las materias necesarias para seguir desarrollándose y reproduciéndose, comienza la esporulación, transformándose las células en ascas, llegando a tener éstas en su interior hasta 4 ascosporas, las cuales son esféricas, con sus contornos muy claros y con un diámetro de 1.5 micra, llegando a tener algunas, excepcionalmente, hasta 2 micras. (Fig. 9.)

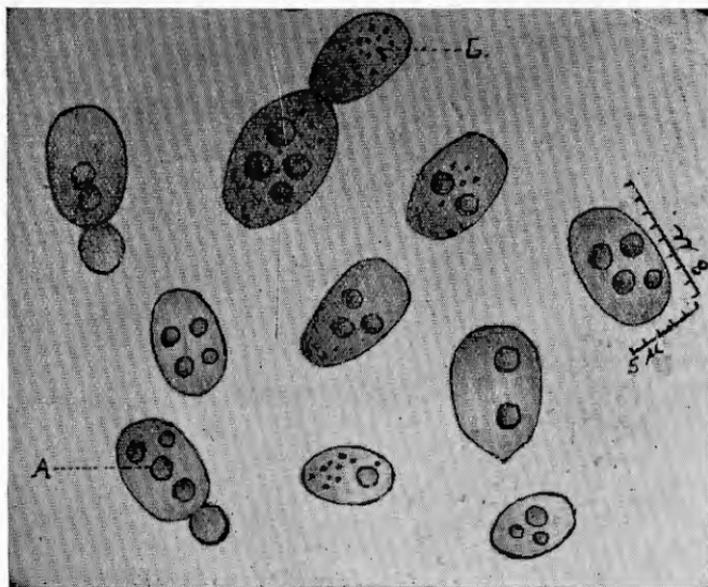


Fig. 9.—Levaduras cultivadas en medio de Gorodkova, transformadas en ascas y mostrando sus ascosporas. (A, ascosporas; G, corpúsculos de grasa.)

En papa glicerizada la esporulación es muy lenta y sólo después de un mes comienzan a formarse las primeras ascas con sus ascosporas.

Resumiendo los anteriores caracteres de las levaduras: por el hecho de ser un hongo unicelular, multiplicarse por brote, convertirse sus células en ascas con formación de ascosporas, pertenece a la familia de los Saecharomycetos, del grupo de

los Ascomycetos; en atención a que forma velo micodérmico en cultivos de mosto simple, tener ascosporas de forma esférica y no fermentar los diferentes azúcares, pertenece al género *Pichia*, y por estar la temperatura máxima del brote situada entre 37° y 38°, la óptima entre 22° y 23°, poseer generalmente 4 ascosporas y adquirir las colonias con el tiempo un color rosa característico, es la especie *Radaisii*, Lutz (Syn.: *Saccharomyces Radaisii*, Lutz).

BIBLIOGRAFIA

- Guillermond.**—The Yeasts, 1920.—Clef. Dichotomique pour la détermination des Levures, 1928.
- Lutz, M. L.**—Recherches biologiques sur la constitution du Tibi (Extrait du Bulletin Trimestrel de la Société Mycologique de France. T. XV, 1899, p. 68).—Nouvelles Recherches sur le tibi. (Bulletin de la Société Mycologique de France, XV. 1899, p. 157.)

NOMBRAMIENTOS

Los señores doctores don Tomás G. Perrín y don Rafael H. Silva, tan respetados y estimados por sus conocimientos científicos y por su honrosa actuación social, fueron nombrados por el H. Consejo Universitario Consejeros Técnicos del Instituto de Biología.

El profesor Carlos C. Hoffmann, de este Instituto, ha sido nombrado miembro correspondiente de la Comisión Internacional de Malaria del Consejo de Higiene de la Liga de las Naciones en Ginebra.

El profesor Isaac Ochoterena, director del Instituto de Biología, ha sido nombrado miembro correspondiente de la Sociedad de Biología de Concepción, Chile, patrocinada por la Universidad de Concepción y afiliada a la Société de Biologie de Paris.

Mucho estiman y debidamente agradecen, Hoffmann y Ochoterena, tan honrosas distinciones.