ESTUDIO DE UNA NUEVA VARIEDAD DE **MYCODERMA CEREVISIAE** DESMAZIERES, AISLADA DEL JITOMATE **(LYCOPERSICUM ESCULENTUM)**

Por MANUEL RUIZ ORONOZ,
del Instituto de Biología.

MYCODERMA CEREVISIAE var. **ALCOHOLICA, n. var.**

La levadura que se estudia en este trabajo fué aislada de una infusión de jitomate **(Lycopersicum esculentum)** elaborada en la siguiente forma: a 200 c.c. de agua de la llave se agregaron 2 grs. de glucosa y la pulpa macerada de un jitomate. Esta mezcla se colocó en un matraz, se hirvió durante 15 minutos, se filtró a través de un lienzo, se dejó enfriar y se le agregaron varios fragmentos de la cáscara del mismo jitomate. La infusión así preparada se colocó a 25° C. A las 48 horas se observó una intensa fermentación del medio y una película blanquecina en la superficie del mismo.

Observado un fragmento de la película con el microscopio, se encontraron gran cantidad de levaduras, que se cultivaron primeramente en varias cajas de Petri con objeto de observar la diferenciación de las colonias, las cuales, al desarrollarse, mostraron a simple vista un aspecto semejante.

A continuación se hizo el aislamiento de la cepa pura por el método de "pequeñas gotitas" de Lindner en mosto de cerveza líquido.

CARACTERES MACROSCOPICOS DEL CULTIVO EN MEDIO LIQUIDO

Mosto de cerveza

Temperatura: 18°-20° C.

Anillo: a las 24 horas se inicia la aparición de un anillo; a las 48 horas está completamente formado y es opaco, blanquizco, de 1

a 1.5 cms. de altura y bastante adherente al tubo. Después de varios días el anillo se hace más denso, opaco, y en algunos sitios toma color moreno.

Velo: a las 24 horas se observa una película muy delgada y blanquizca en la superficie del medio. A las 48 horas se integra un velo micodérmico completo, que es membranoso, opaco, mate, blanco y ligeramente plegado. A los pocos días se torna completamente plegado y fragmentos del mismo caen al fondo; asimismo, toma un color ligeramente moreno. Con el tiempo el velo cae al fondo del tubo y se desintegra.

Sedimento: a las 48 horas es muy escaso y de color blanquizco; después, y conforme se caen los fragmentos del velo, se hace más abundante. Con el tiempo toma un ligero tinte moreno.

Fermentación: a las 48 horas se inicia un fermentación lenta que continúa durante uno o dos días.

Turbidez: a las 48 horas el medio se enturbia y así se observa por muchos días; cuando el velo desaparece y sus fragmentos caen al fondo del tubo, el medio pierde su turbidez.

CARACTERES MACROSCOPICOS DE LOS CULTIVOS EN MEDIOS SOLIDOS

CULTIVOS EN PLACA

Mosto de cerveza gelosado

Temperatura: 18°-20° C.

Edad del cultivo: 12 días.

Forma: circular; así se conservan las colonias hasta que el medio se deseca.

Superficie: en su mayor parte es un poco rugosa, quedando una zona delgada en la superficie, que es lisa. Con el tiempo esta zona se amplía y la parte rugosa del centro se reduce.

Elevación: convexa y en el centro umbonada. Al cabo de un mes, la mayor parte de la colonia queda plana y el centro levantado.

Bordes: ciliados.

Color: la parte central es moreno blanquizca y la periferia de color blanco marfil. A los 30 días todo el cultivo toma un color ligeramente moreno, siendo en el centro un poco más acentuado.

Estructura interna: amorfa.

Caracteres ópticos: opaco.

Consistencia: cremosa y un poco viscosa.

Brillo: ninguno; las colonias tienen un aspecto mate.

Acción sobre el medio: ninguna.

Dimensiones: 8 a 10 mm.; en los siguientes días crecen muy poco.

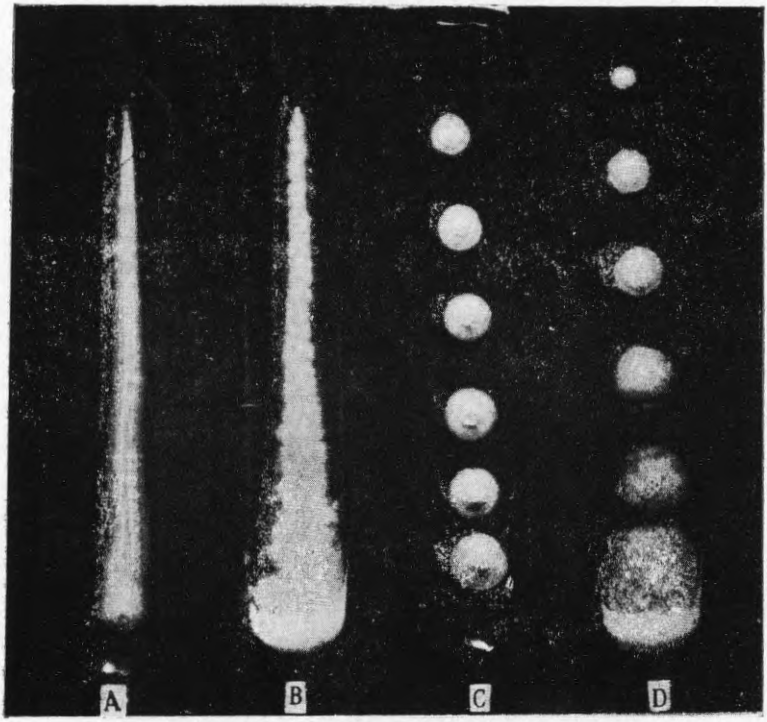

Fig. 1. Cultivos en estría y en placa de **Mycoderma cerevisiae** var. **alcoholica** (10 días). A, Mosto gelatinado; B, Mosto gelosado; C, Mosto gelatinado; D, Mosto gelosado

Mosto de cerveza gelatinado

Temperatura: 18°-20° C.

Edad del cultivo: 13 días.

Forma: circular.

Superficie: un poco rugosa en su mayor parte, y sólo en la periferia queda una delgada franja circular lisa; con el tiempo la superficie se torna finamente granular.

Elevación: plana en la periferia y umbonada en el centro.

Color: blanco. Con el tiempo los cultivos toman un ligero tinte grisáceo y después moreno muy leve.

Bordes: ciliados.

Caracteres ópticos: opaco.

Consistencia: cremosa.

Brillo: ninguno; los cultivos tienen aspecto mate.

Acción sobre el medio: ninguna. A los 60 días se inicia una leve licuefacción, que es completa a los 90 días.

Dimensiones: 6 a 8 mm.; después crecen muy poco.

CULTIVOS EN ESTRIA

Mosto de cerveza gelosado

Temperatura: 18°-20° C.

Edad del cultivo: 12 días.

Forma: extendida, sobre todo en la región basal.

Superficie: lisa; un poco rugosa a lo largo de la línea media, especialmente en la parte basal.

Elevación: plana y un poco levantada en el centro.

Bordes: finamente ciliados.

Color: la parte central moreno blanquizca y la periferia blanca.

Caracteres ópticos: opaco.

Estructura interna: amorfa.

Consistencia: cremosa.

Brillo: ninguno.

Acción sobre el medio: ninguna.

Mosto de cerveza gelatinado

Temperatura: 18°-20° C.

Edad del cultivo: 13 días.

Forma: extendida, aunque menos que en mosto gelosado.

Superficie: lisa en la periferia y rugosa en el centro.

Elevación: plana en la periferia y convexa en el centro.

Bordes: ciliados, más finos que en mosto gelosado.

Color: blanco; con el tiempo toma un ligero tinte moreno.

Caracteres ópticos: opaco.

Estructura interna: amorfa.

Consistencia: cremosa.

Brillo: ninguno.

Acción sobre el medio: a los 60 días una ligera licuefacción.

CULTIVOS EN PICADURA

En mosto de cerveza gelosado y a 18°-20° C., el crecimiento en la superficie del medio es muy rápido y pronto cubre completamente el medio. A lo largo del piquete el desarrollo es regular, con aspecto equinulado y opalescente y de bordes ciliados. Debido a la fermentación se forman burbujas de gas dentro del medio.

En mosto de cerveza gelatinado y a la misma temperatura citada, el cultivo en la superficie se desarrolla con cierta intensidad cubriendo todo el medio. A lo largo del piquete el crecimiento es escaso, con aspecto filiforme y transparente y de bordes finamente ciliados. En el medio se forman varias burbujas que terminan por abrir grietas en el mismo. A los 90 días el medio se licúa aunque no de manera completa.

CARACTERES DE LAS COLONIAS GIGANTES

Mosto de cerveza gelatinado

Temperatura: 18°-20° C.
Edad del cultivo: 40 días.
Forma: circular.

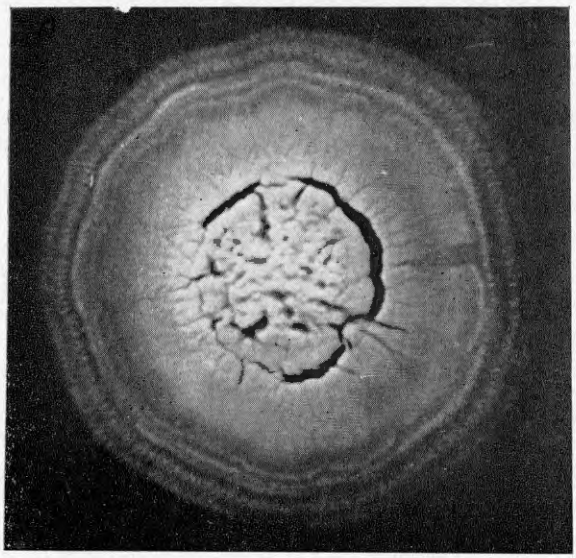

Fig. 2. Colonia gigante de las levaduras en mosto gelosado (40 días)

Superficie: en el centro un poco rugosa, después sigue una zona lisa con estrías radiales muy finas, y por último en la periferia se nota una parte ligeramente vellosa, en la que se observan varias zonas circulares concéntricas.

Elevación: plana y un poco elevada en el centro.

Bordes: auriculados y ciliados.

Color: blanco en el centro y en la periferia con un ligero tinte moreno.

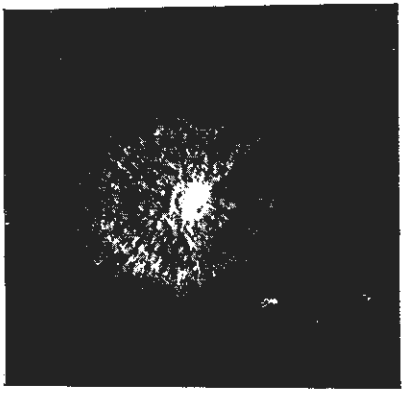

Fig. 3. Colonia gigante de las levaduras en mosto gelatinado (40 días)

Caracteres ópticos: opaco.

Consistencia: cremosa, aunque un poco más coherente que los cultivos logrados en tubos.

Brillo: ninguno.

Dimensiones: 7 cms. de diámetro.

Mosto de cerveza gelatinado

Temperatura: 18°-20° C.

Edad del cultivo: 40 días.

Forma: circular.

Superficie: levemente rugosa en el centro, después sigue una zona granulosa y en la periferia es finamente vellosa.

Elevación: plana y en el centro con varias depresiones muy leves.

Bordes: ciliados aunque en forma más leve que en mosto gelosado.

Color: blanco en el centro y en la periferia moreno blanquizco.
Caracteres ópticos: opaco.
Consistencia: cremosa y algo viscosa.
Brillo: ninguno.
Dimensiones: 5 cms. de diámetro.

CARACTERES MICROSCOPICOS DE LAS CELULAS

Mosto de cerveza

Temperatura: 18°-20° C.
Edad del cultivo: 72 horas.
Forma: principalmente largo-ovales, ovales y cilíndricas, aunque existen también circulares y muy pocas alargadas.

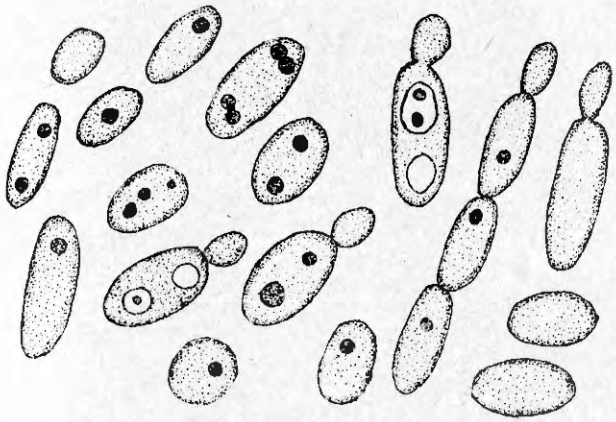

Fig. 4. Células de **Mycoderma cerevisiae** var. **alcoholica** en mosto líquido (72 horas)

Agrupamiento: aisladas; con el tiempo forman cadenitas con pocas células.
Citoplasma: transparente, hialino y sin granulaciones.
Vacuolas: la mayoría de las células no las poseen, aunque en algunas se notan una o dos, pequeñas o grandes.
Grasa: la mayor parte de las células tienen uno, dos o más glóbulos pequeños o grandes.

Reproducción: por brotes unipolares.

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

Dimensiones: (3-5.2) × (6-8.5) micras; algunas muy alargadas alcanzan hasta 15 micras de longitud.

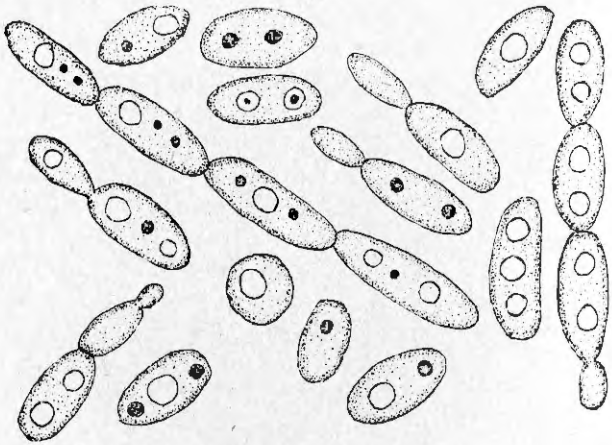

Fig. 5. Levaduras en mosto gelosado (72 horas)

Mosto de cerveza gelosado

Temperatura: 18°-20° C.

Edad del cultivo: 24 horas.

Forma: ovales, cilíndricas y largo-ovales; muy pocas circulares.

Agrupamiento: aisladas; a los tres días se notan unidas en pequeñas cadenitas de tres o más células, sin que lleguen a ser muy grandes. Con el tiempo aumenta muy poco el número de pequeñas cadenitas.

Citoplasma: muy transparente y sin granulaciones.

Vacuolas: en la mayor parte de las células se notan una, dos y a veces más, vacuolas pequeñas; en raras ocasiones son grandes. Con el tiempo todas las células tienen vacuolas pequeñas o grandes.

Grasa: son escasos los glóbulos de grasa; uno o dos pequeños, dentro de las vacuolas o en el citroplasma. Con el tiempo su tamaño y número aumenta.

Reproducción: por brotes unipolares.

Ascas y ascosporas: no se observaron.

Dimensiones: (3-5) × (6-9) micras; a los 30 días aparecen algunas formas alargadas de 13 a 15 micras de longitud por 3 a 5 micras de anchura.

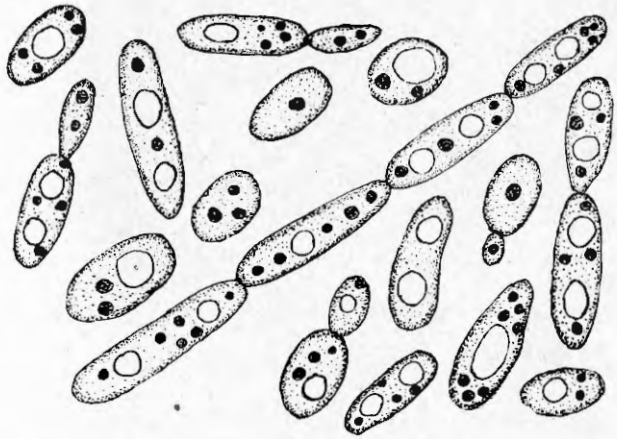

Fig. 6. Levaduras en mosto gelosado (30 días)

Mosto de cerveza gelatinado

Temperatura: 18°-20° C.

Edad del cultivo: 48 horas.

Forma: ovales, largo-ovales y cilíndricas; algunas alargadas y circulares.

Agrupamiento: aisladas; algunas forman cortas cadenitas de tres o más células.

Citoplasma: transparente y sin granulaciones.

Vacuolas: en algunas células se nota una vacuola, en otras dos, y ciertas células grandes tienen varias.

Grasa: en pocas células se notan uno o dos glóbulos pequeños.

Reproducción: por brotes unipolares.

Ascas y ascosporas: no se observaron.

Dimensiones: (3-5) × (7-9) micras; algunas células alargadas tienen hasta 12 y 15 micras de longitud.

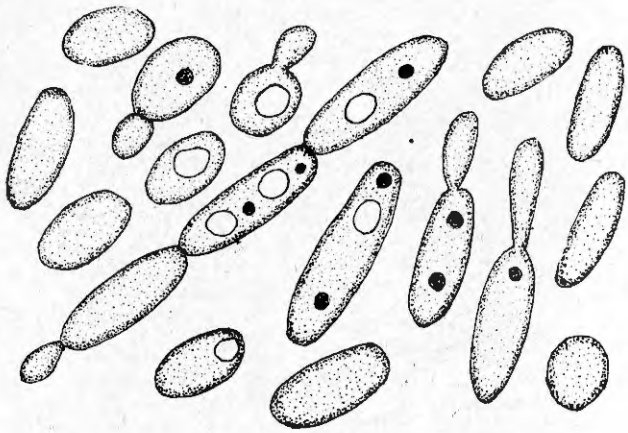

Fig. 7. Levaduras en mosto gelatinado (48 horas)

ESPORULACION

Con objeto de obtener la formación de ascas y ascosporas, se recurrió a los distintos métodos y medios de cultivo recomendados por varios autores, especialmente a las siembras en discos de yeso, siendo los resultados completamente negativos.

Caracteres bioquímicos

Licuefacción de la gelatina: a los 60 días se inicia una leve licuefacción, que a los 90 días es más intensa.

Fermentación de los azúcares:

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

Es muy importante el hecho de haber obtenido fermentación con dextrosa, levulosa y manosa, pues las especies hasta hoy descritas del género **Mycoderma** no dan fermentación con los azúcares. Tomando en cuenta este hecho, se repitieron varias ocasiones las pruebas de fermentación, y siempre se llegó al mismo resultado.

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

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

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

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

Alcohol etílico como substrato de crecimiento: muy buen crecimiento se logró; a las 24 horas las levaduras han formado anillo y velo.

CLASIFICACION

La levadura que se estudia en este trabajo, pertenece a las levaduras anascosporógenas, ya que no forma esporas. De acuerdo con la clasificación de Lodder, la colocamos dentro de la Familia **Torulopsidaceae** y subfamilia **Torulopsidoideae,** pues no forma pseudomicelio, micelio verdadero ni aparato esporífero. De acuerdo con la clave de los géneros de la subfamilia **Torulopsidoideae,** según Lodder, queda colocada en el género **Mycoderma** por los siguientes caracteres: células ovales y cilíndricas, un velo seco y mate en cultivos de mosto desde el principio, multiplicación por brote y los brotes no se separan de la célula madre por formación de tabique. Asimismo, y conforme a las claves de Lodder para las especies, queda colocada dentro de la especie **Mycoderma cerevisiae** Desmazieres por los siguientes caracteres: cultivo en estría en mosto agar liso, células anchas, 3-5.5 micras, y formación de un velo en medio de alcohol etílico. Sin embargo, como presenta algunos caracteres un poco distintos de los de esta especie, sobre todo la fermentación de glucosa (L.M.), estimamos que se trata de una nueva variedad, para la cual proponemos el nombre de **alcoholica.** A continuación colocamos un cuadro comparativo de los caracteres principales de **Mycoderma cerevisiae** y de la nueva variedad que estudiamos.

Mycoderma cerevisiae

Desmazieres

Crecimiento en mosto: Después de 24 horas, a 25° C., células ovales o cilíndricas, (3-5.5) x (6.8-9.5) micras, aisladas, en pares o cortas cadenas.

Después de 2 días, a 25°C., velo delgado, liso y mate.

Después de 3 días, a 25°C., células como arriba; velo mate, delgado, arrugado y amarillento.

Después de 11 días, a 15°C., velo grueso, arrugado, y sedimento.

Después de 30 días, a 15°C., células como arriba.

Crecimiento en mosto agar: Después de 3 días, a 25°C., células ovales o cilíndricas, (3-5) x (5-10) micras, aisladas o en pares.

Cultivo en estría: Después de 75 días, a 15°C., gris, blando, liso, mate, plano, pero un poco levantado en el centro, borde transparente y finamente aserrado.

Colonia gigante en mosto gelatina: Después de 43 días, a 15°C., gris, blanda, aplanada, en el centro un poco sumida y con algunas salientes, finamente estriada radialmente, borde liso.

Licuefacción de la gelatina: Después de 43 días, a 15°C., negativa.

Fermentación: ninguna.

Mycoderma cerevisiae

var. **alcoholica**

Crecimiento en mosto: Después de 24 horas, a 18°-20°C., células ovales, largo-ovales o cilíndricas, (3-5.2) x (6-8.5) micras, aisladas, en pares o cortas cadenas.

Después de 2 días, a 18°-20°C., velo delgado, ligeramente plegado y mate.

Después de 3 días, a 18°-20°C., células como arriba; velo mate, delgado, arrugado y blanco.

Después de 11 días, a 18°-20°C., velo grueso, arrugado, y sedimento.

Después de 30 días, a 18°-20°C., células como arriba.

Crecimiento en mosto agar: Después de 3 días, a 18°-20°C., células ovales, largo-ovales o cilíndricas, (3-5) x (6-9) micras, aisladas, en pares o en cortas cadenas.

Cultivo en estría: Después de 12 días, a 18°-20°C., moreno blanquizco, blando, liso, mate, plano, pero un poco levantado en el centro, borde transparente y finamente ciliado.

Colonia gigante en mosto gelatina. Después de 40 días, a 18°-20°C., blanca en el centro y en la periferia moreno-blanquizca, blanda, aplanada, en el centro un poco sumida, sin estriaciones radiales, bordes finamente ciliados.

Licuefacción de la gelatina: Después de 43 días, a 18°-20°C., negativa. A los 60 días una ligera licuefacción, que a los 90 días es más intensa.

Fermentación: fermenta glucosa (L. M.).

Mycoderma cerevisiae
Desmazieres

Asimilacion de los azúcares:

Dextrosa, levulosa, manosa +
Galactosa — Maltosa —
Sacarosa — Lactosa —

Asimilación del N:

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

Alcohol etílico como substrato de crecimiento: buen crecimiento; formación de un velo delgado.

Mycoderma cerevisiae
var. **alcoholica**

Asimilación de los azúcares:

Dextrosa, levulosa, manosa +
Galactosa — Maltosa —
Sacarosa — Lactosa —

Asimilación del N:

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

Alcohol etílico como substrato de crecimiento: buen crecimiento; formación de un velo delgado.

RESUMEN

En el presente estudio se describe una nueva variedad de levaduras, **Mycoderma cerevisiae** var. **alcoholica** n. var., aislada de una infusión de jitomate **(Lycopersicum esculentum).** Sus caracteres principales son: En mosto de cerveza produce velo, anillo y sedimento. En mosto de cerveza gelosado el cultivo en placa es circular, de superficie levemente rugosa en el centro y lisa en la periferia, un poco convexo, el centro elevado, color moreno blanquizco, opaco, mate y cremoso. En mosto se obtienen células ovales, largo-ovales y cilíndricas, aisladas, en pares o en cortas cadenas, con brotes unipolares y con dimensiones de (3-5.2) × (6-8.5) micras. Cultivo en estría en mosto agar, a los 12 días y a 18°-20°C., moreno blanquizco, blando, liso, mate, plano, un poco levantado en el centro, borde transparente y finamente ciliado. A los 60 días ligera licuefacción que se acentúa a los 90 días. Fermenta dextrosa (L.M.). Asimila dextrosa, levulosa y manosa; como fuente de nitrógeno aprovecha asparagina, sulfato de amonio, urea y peptona. El alcohol etílico es buen substrato de crecimiento.

Descripción en latín:

Mycoderma cerevisiae var. **alcoholica:** Fungus exceptus ex infusione "jitomate" **(Lycopersicum esculentum).** In musto cerevisiae vellum, annulum et sedimentum format. Cellulae ovatae, longo-ovatae et

cylindraceae, geminae vel brevibus catenis dispositae, (3-5.2) × (6-8.5) micrae. In musto gelatoso coloniae circulares, superficie laevi in medio parum rugosa, leviter convexae, levatae in medio, fusco-albidae, opacae, non nitidae, cremosae. In stria colonia fusco-albida, mollis, laevis, non nitida, parce lavata in medio, margine translucida et presse ciliata. Diebus 60 levis, 90 intensior liquefactio producitur. Fermentat dextrosam (L.M.). Assimilat dextrosam, levulosam et manosam. Pro assimilatione nitrogeni asparaginam, amonii sulphatum, uream et peptonam poscit. Alcohol ethylicus incrementum praestat.

BIBLIOGRAFIA

CIFERRI, R. and REDAELLI, P., 1929.—Studies on the Torulopsidaceae. Annals Mycologici, V. XXVII, pp. 243-295.

CIFERRI, R. and REDAELLI, P., 1935.—Contribuzioni alla sistematica della Torulopsidaceae. Archiv. Mikrobiol., V. 6, pp. 9-72.

DIDDENS, H. A., und LODDER, J., 1942.—Die Anaskosporogenen Hefen. Zweite Halfte. North-Holland Publishing Company, Amsterdam, pp. 1-511.

GUILLIERMOND, A., 1920.—The Yeasts. John Wiley and Sons, Inc., New York, pp. 1-424.

GUILLIERMOND, A., 1928.—Clef dichotomique pour la détermination des levures. Libraire Le Francois, Paris, pp. 1-124.

GUILLIERMOND, A., 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, V. 5, pp. 97-179.

KAYSER, E., 1905.—Les Levures. Masson et Cie. Editeurs, Paris, pp. 1-212.

LODDER, J., 1934.—Die Anaskosporogenen Hefen. Erste Halfte. N. V. Noord-Hollandsche Uitgeversmaatschappij, Amsterdam, pp. 1-256.

SKINNER, CH. 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.—Beitrage zu einer monographie der Hefearten, I Teil. Die Sporogenen Hefen, Amsterdam, pp. 1-547.

Nota: Mucho agradezco la gran colaboración que la señorita Ma. del Carmen Ortega me prestó durante la elaboración de este trabajo.