



UNIVERSIDADE DO RECIFE

INSTITUTO DE MICOLOGIA

Publicação nº 382

EL GENERO RHODOTORULA Harrison: *ALGUNAS
CONSIDERACIONES SOBRE SU ESTADO ACTUAL*

R. C. Artagaveytia-Allende

RECIFE — BRASIL
1963

UNIVERSIDADE DO RECIFE

I N S T I T U T O D E M I C O L O G I A

oOo

PROF.DR. JOÃO ALFREDO GONÇALVES DA COSTA LIMA
Reitor da Universidade

PROF.DR. NEWTON DA SILVA MAIA
Vice-Reitor da Universidade

DR. EDMIR REGIS DE CARVALHO
Secret.Geral da Universidade

PROF.A. CHAVES BATISTA
Diretor-Pesq. do IMUR

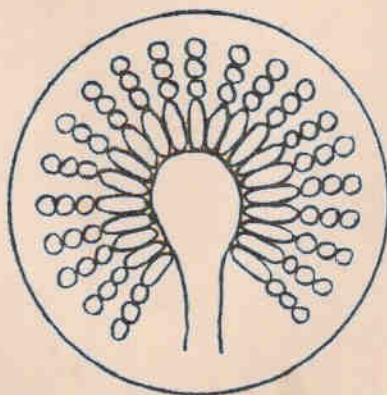
UNIVERSIDADE DO RECIFE

I N S T I T U T O D E M I C O L O G I A

Publicação nº 382

EL GENERO RHODOTORULA Harrison: ALGUNAS CONSIDERACIONES SOBRE SU ESTADO ACTUAL.

R.C. Artagaveytia-Allende



UNIVERSIDADE DO RECIFE

I N S T I T U T O D E M I C O L O G I A

Publicação nº 382

EL GENERO RHODOTORULA Harrison: ALGUNAS CONSIDERACIONES SOBRE SU ESTADO ACTUAL.

R.C. Artagaveytia-Allende
Micología, Facultad de
Química, Montevideo, Uruguay
Delegado de IMUR en el
Uruguay

Introducción.

Las levaduras rojas, aunque no tienen entidad como agentes patógenos, siempre merecieron la atención de los dedicados a estos temas. Grandes modificaciones sufrieron sus estructuraciones genéricas, creandose o suprimandose géneros, es-

pecies o variedades. Ultimamente, la descripción de nuevas especies y la utilización de nuevos caracteres, con fines de clasificación, ha permitido aumentar el número de especies que integran el género. Tratando de agrupar las nuevas especies, por su similitud, a las ultimamente aceptadas, podemos constituir varios grupos. Es verdad que muchos autores, aplicando técnicas mas o menos parecidas, obtienen resultados diferentes, frente a la utilización de los hidrocarbonados de rutina y, también, en otras reacciones. Todo esto ha vuelto a complicar el estudio de las levaduras rojas y, por ello, consideramos oportuno intentar una vista de conjunto del género. Estructuración de grupos: Sobre la base de las Rhodotorulas admitidas por Lodder y Kreger van Rij (1), agruparemos las nuevas especies, tratando, en lo posible, de efectuar brevemente, las aclaraciones y comparaciones pertinentes. Grupo Rhodotorula glutinis: Está constituido por dos especies, Rhodotorula glutinis y Rhodotorula aurantiaca. Ambas poseen esquema auxanográfico idénticos, es decir, utilizan los azúcares siguientes: glucosa, galactosa, sacarosa y maltosa y no utilizan la lactosa. Tienen como característica ser nitrato positivo. Mackinnon y Artagaveytia-Allende (2) y Mackinnon (3) consideran la rafinosa como positiva para Rhodotorula glutinis. Lo mismo hacen Novak y Zsolt (4) para las especies citadas. Lodder y Kreger van Rij (1) diferencian ambas especies en la forma de las

células, pues, según ellas, Rhodotorula glutinis las posee redondas u ovales, en cambio Rhodotorula aurantiaca las posee largo-ovales a alargadas. Por otra parte, Novak y Zsolt (4) consideran a Rhodotorula aurantiaca sinonimo de Rhodotorula glutinis. Grupo Rhodotorula rubra: Se diferencia del anterior en que es nitrato de potasio negativo. Está constituido por dos especies ya admitidas por Lodder y Kreger van Rij (1), que son Rhodotorula rubra y Rhodotorula crocea (6). Mackinnon y Artagaveytia-Allende (2) y Mackinnon (3), lo mismo que Novak y Zsolt (4), encuentran la refinosa positiva para las dos primeras especies. Lodder y Kreger van Rij (1) diferencian sus especies en que Rhodotorula mucilaginosa tiene células redondas u ovales, en cambio Rhodotorula rubra las tiene largo-ovales. Novak y Zsolt (4) basan la diferencia entre ambas especies, en otras propiedades que la utilización de los azúcares, pues admiten que Rhodotorula mucilaginosa no crece en medio con alcohol como única fuente de carbono, en cambio Rhodotorula rubra crece en ese medio. Sin embargo, Lodder y Kreger van Rij (1) admiten en la descripción de las especies que Rhodotorula rubra crece en medio con alcohol y Rhodotorula mucilaginosa puede o no crecer. Como se ve, para las autoras holandesas, el crecimiento en medios con alcohol es de poca entidad como valor taxonómico y se basan en la forma de las células. De las otras dos especies, que han

sido incluídas en el grupo Rhodotorula laryngis, según la descripción del autor (5), sería rafínosa negativo y arbutina también negativa en lugar de positivas, como serían en Rhodotorula rubra y Rhodotorula mucilaginosa. En la forma de las células habría cierta diferencia: las de Rhodotorula mucilaginosa son ovales y las de Rhodotorula laryngis corto-ovales. Esta diferencia es mínima, pues es bien sabido que muchas veces Rhodotorula mucilaginosa, en cultivos muy jóvenes, se presenta con células casi redondas. La separación de Rhodotorula rubra es más clara, pues esta presenta las células largo-ovales. Los autores citan la opinión de Nakayama, Mackinney y Phaff (7), quienes "encontraron pigmento carotenoide en Rhodotorula y Cryptococcus, manifestando que una separación entre los dos géneros, en base a la producción de pigmentos, es vaga y arbitraria, y que es mejor la producción de almidón, que es negativa en las levaduras rojas, salvo en Rhodotorula flava y en las amarillas". Dice el autor de Rhodotorula laryngis (5) que, de acuerdo con este, el género Rhodotorula debe ser incluido en la subfamilia Cryptococcoideae. Referente a la otra especie, Rhodotorula crocea (6), el esquema asimilatorio clásico sería igual al de Rhodotorula rubra y Rhodotorula mucilaginosa. Los autores de la especie (6) citan otros compuestos carbonados, pero la diferencia aparece en que es color amarillo-fuerte, azafran, amarillo-dorado,

aureo, según definición de la palabra latina crocea (8). Entre Rhodotorula crocea y la antigua Rhodotorula aurea, actualmente considerada Cryptococcus laurentii, existe la diferencia en que esta última es color amarillo-pálido y utiliza la lactosa. Además, Rhodotorula crocea no produce simil almidón, como lo hace Cryptococcus laurentii. Grupo Rhodotorula minuta: Comprende este grupo dos especies: Rhodotorula minuta y Rhodotorula pilimanae (9). Esta última no es considerada por Lodder y Kreger van Rij (1), apesar de ser de 1951, posiblemente por razón de fecha en la aparición de los trabajos. Estas dos especies son nitrate de potasio negativo y utilizan, de los azúcares empleados por Lodder y Kreger van Rij (1), solamente la glucosa, galactosa y sacarosa, no utilizando la maltosa y la lactosa. Mackinnon, en la página 125 de su obra Zimología Médica (3), dice que en Rhodotorula minuta la rafinosa es positiva y la maltosa positivo debil. Lodder y Kreger van Rij (1), en la discusión sobre esta especie, citan a Mackinnon y Artagaveytia-Allende (2), quienes consideran a Rhodotorula minuta sinónimo de Rhodotorula mucilaginosa, porque ellos encuentran positiva la asimilación de la maltosa, lo que estaría de acuerdo con lo establecido por Saito. Sin embargo, Lodder y Kreger van Rij (1), al estudiar una cepa autentica de Saito, no encuentran este resultado. Es por ello que resuelven mantener Rhodotorula minuta como Lodder (10)

lo estableció. Según sus autores (9), Rhodotorula pilimanae se parecería a Rhodotorula sanniei, pero esta especie hoy día, según Lodder y Kreger van Rij (1), es sinónima de Rhodotorula mucilaginosa, pero, considerada de acuerdo con la clave dada por las autoras holandesas, se parecería a Rhodotorula minuta. La forma de las células y sus medidas concuerdan con las dadas por Lodder y Kreger van Rij (1) para Rhodotorula minuta. Pensamos como Novak y Zsolt (4) en considerar a Rhodotorula pilimanae sinónimo de Rhodotorula minuta. Es de hacer notar que Rhodotorula pilimanae no crece sin el agregado de vitaminas. Grupo Rhodotorula graminis: La especie Rhodotorula graminis (11) se diferencia netamente del grupo anterior en que es nitrato de potasio intensamente positivo. Como en ciertas ocasiones los cultivos pueden aparecer pulverulentos y, además, el esquema de las propiedades biológicas es casi similar con el de Sporobolomyces odoratus, podría confundirse con esta especie, pero en esta existen balistosporos y esterigmas. Novak y Zsolt (4) agregan a los datos la información de que esta especie es simil almidón negativo, arbutina y alcohol dudosos. Grupo Rhodotorula pallida: Es una especie que solo utiliza la glucosa y, debilmente, la galactosa, propiedades que la hacen facilmente distinguible entre las admitidas por Lodder y Kreger van Rij (1). Grupo Rhodotorula texensis: Según el autor de esta especie (12), ella es lactosa po-

sitiva, aunque para Novak y Zsolt (4) lo sería negativo y por lo tanto consideran a esta especie como sinónimo de Rhodotorula minuta (también Rh. pilimanae). Grupo Rhodotorula flava: Este grupo se caracteriza en que los cinco azúcares clásicos son asimilados. Cuatro especies son nitrato de potasio negativas y son: Rhodotorula flava, Rhodotorula marina (12), Rhodotorula peneaus (12) y Rhodotorula tokyoensis (13) y dos son nitrato positivo, siendo estas: Rhodotorula macerans (14) y Rhodotorula lactosa (15). Como ampliación de la definición de Rhodotorula flava Novak y Zsolt (4) dicen que la asimilación de la rafinosa es variable y que el simil almidón es negativo. Rhodotorula marina, en lo referente a la asimilación de azúcares, es galactosa debil positivo y la lactosa es positiva, despues de un período de adaptación. También referente a la temperatura, esta especie no crece a 32°C, pero crece bien a 10°C. Novak y Zsolt (4) dan el alcohol y la rafinosa como dudosos. Verona y Montemartini (16) señalan que la principal característica de esta especie es precisamente el alcohol negativo y la adaptabilidad de la lactosa. Rhodotorula peneaus es bastante parecida a Rhodotorula marina y, según sus autores, es parecida a Rhodotorula aurea (hoy Cryptococcus laurentii) y a Rhodotorula flava, diferenciandose en los compuestos carbonados. Siempre, según sus autores, se diferencia de Rhodotorula aurea y Rhodotorula flava, porque no utiliza el alcohol, a-

pesar del agregado de vitaminas, por el menor ancho de las células y el color amarillo-brillante del cultivo (según Lodder y Kreger van Rij (1) Rhodotorula flava no utiliza el alcohol). La formación de compuestos similares al almidón es positivo débil. Rhodotorula peneaus se diferencia de Rhodotorula marina en que la primera tiene pigmento amarillo y la otra rosado. Rhodotorula marina utiliza la galactosa y la lactosa en menor intensidad. Rhodotorula marina es arbutina negativa y Rhodotorula peneaus lo es positivo, aunque débil. En nuestra opinión, Rhodotorula marina sería una especie con factores negativos e carenciada de algún factor. Los autores de estas dos especies (12) efectúan una observación referente a los cambios de color, en cultivos relacionados con la temperatura, citando la diferencia de color observada en algunas cepas de Rhodotorula glutinis, que a 5°C es color amarillo, haciéndose más oscuro a 10°C, llegando al color rosado a la temperatura ambiente. Una de las dos cepas observadas presenta siempre un color más oscuro o intenso que la otra; en cambio, las dos cepas de Rhodotorula peneaus estudiadas son de color crema a 5°C y amarillo-canario a 19°C. Referente a la producción de compuestos similares al almidón, los autores de la especie la dan como positivo sumamente débil, y Novak y Zsolt (4) la consideran negativa. En cuanto a Rhodotorula tokyoensis, concuerda en todo con la descripción que Lodder y

Kreger van Rij (1) dan para Rhodotorula flava, pero solo que esta es color amarillo y aquella tiene color rosado (con Rh. flava crean la variedad flava de Rh. tokyoensis). En el grupo que asimila el nitrato de potasio, tenemos dos especies que son: Rhodotorula macerans (14) y Rhodotorula lactosa (17). La asimilación del nitrato las diferencia perfectamente de las demas del grupo. Rhodotorula macerans asimila la galactosa debilmente y la lactosa puede ser positiva o debilmente asimilada. La producción de compuestos similares al almidón es positiva, aunque Novak y Zsolt (4) opinan que es negativa. En cuanto a Rhodotorula lactosa, el autor de la especie resalta la diferencia de su especie con la anterior de que en esta la producción de compuestos similares al almidón es negativa. Hasegawa (15) resalta que la diferencia radica en la producción del almidón y en la necesidad de vitaminas. Además, en la descripción dada por el autor, se indica que Rhodotorula lactosa es rosada y Rhodotorula macerans es color rojo-amarillento-claro. Consideraciones: Harrison (18) dividió las levaduras rojas y amarillas estudiadas por Saito (19), creando los géneros Rhodotorula y Chromotorula, basado en su coloración roja y amarilla, respectivamente. Lodder (10) hace un solo género con todas ellas: Rhodotorula. Lodder y Kreger van Rij (1), basándose en ciertas propiedades biológicas, estructuran de nuevo, los géneros Rhodotorula y Cryptococcus. El

antiguo género Chromotorula sigue suprimido. Pero la separación entre las especies que, ahora, forman el género Rhodotorula se hace por los esquemas asimilatorios y por la forma de las células, pero no en razón de la producción de pigmento carotenoide. Esta función solamente tiene carácter genérico. Hasegawa (20), comparando las descripciones de Lodder y Kreger van Rij (1) con las originales de los autores de las especies respectivas, encuentra grandes discrepancias. Hasegawa (20) invalida el dato morfológico y declara a Rhodotorula aurantiaca y Rhodotorula glutinis var. rubescens sinónimos de Rhodotorula glutinis y a Rhodotorula mucilaginoso con Rhodotorula rubra. En cuanto al color, este autor separa, bien, Rhodotorula aurantica y Rhodotorula flava de las demás. Las antiguas especies, con mas o menos pigmento carotenoide, han sido colocadas, por sucesivos autores, en varios géneros, basándose en la presencia de otros caracteres: cápsula, apariencia mucosa, etc., y, principalmente, en la producción de productos similares al almidón y a la falta visual de pigmentos carotenoides; pero muchas excepciones han sido constatadas. Wickerham (21) opina que la producción de productos similares al almidón no sirve como característica en la separación de géneros. Hasegawa, Banno y Yamauchi (22) hacen una revisión histórica del valor taxonómico del color, debido a pigmentos carotenoides, y a dicho trabajo remitimos el lector interesado. Pe-

ro, referente al punto que nos interesa, diremos que Phaff, Mrak y Williams (12) ponen en evidencia la influencia de la baja temperatura sobre Rhodotorula glutinis, la que en estas condiciones toma un color amarillento. Tambien Makayama, Mackinney y Phaff(7) hacen observaciones mas o menos parecidas con otras especies de levaduras, estudiando la concentración de los distintos pigmentos carotenoides. En Rhodotorula rubra, los pigmentos son escasamente influenciados por la baja temperatura; en cambio, en otra especie, Rhodotorula glutinis, hay modificaciones en la relación entre los diversos pigmentos. Etchell, Bell y Jones (23), en un trabajo con hermosas fotografías en colores, demuestran las variaciones en pigmentos carotenoides de varias Rhodotorulas, al ser cultivadas en diferentes medios y durante un plazo de seis semanas. El método para caracterizar los pigmentos es el cromatográfico y determinación de espectro de absorción. La gama de colores producida por los distintos pigmentos es amplia. Basados en las variaciones y proporciones de pigmentos en Rhodotorula, Hasegawa, Banno y Yamauchi (22) separan, claramente, dos grupos, creando en el género Rhodotorula dos subgéneros: Rubrotorula para las rojas y Flavotorula para las amarillas. El subgénero Rubrotorula se caracteriza por colonias con color, debido pigmento carotenoides, limitado, estrictamente, a la gama entre rojo y naranja, y reacción negativa, con el iodo frente a

polisacáridos extracelulares, con excepción de Rhodotorula macerans y Rhodotorula glutinis var. infirmominiata. En este subgénero, colocan especies que siempre fueron consideradas Rhodotorula. En otro trabajo, los mismos autores, Hasegawa, Banno y Yamauchi (24), cuando crean el subgénero Flavotorula, para las Rhodotorulas amarillas, dan las definiciones genéricas y subgenéricas siguientes: Rhodotorula: "Células redondas, ovales a alargadas; reproducción por gemación multilateral. Ocasionalmente, pseudomicelio. Las células, a veces, rodeadas de cápsula visible. En medio líquido, generalmente se forma un anillo. Metabolismo estrictamente exudativo y no fermentación. Los cultivos en medios sólidos, a veces, tienen apariencia mucosa. Se producen pigmentos carotenoides rojos a amarillos. El género consiste en dos subgéneros llamados Rubrotorula y Flavotorula". Subgénero Rubrotorula: "Células redondas, ovales, alargadas. Las células redondas y ovales (2-5) x (2.5-8.5) u, de forma comparativamente estable, pero ellas pueden cambiar a formas alargadas, durante cultivos sucesivos. Células alargadas, (2-5) x (10-28) u, las medidas generalmente variables con las condiciones del cultivo. El color de las colonias, debido a pigmentos carotenoides, es rojo a naranja. La absorción máxima de los pigmentos crudos, extraídos de las células, en medio papa-extracto de levadura, es de 480 mu. La reacción del iodo con el almidón, en caldo de

cultivo, es generalmente negativa. La necesidad de tiamina en el subgénero es circunscripta a la mitad pirimidinica". Subgénero Flavotorula: "Células redondas, ovales. Las células de (2.5-6) x (4-8) u, ocasionalmente esféricas, grandes, hasta de 13 u de diámetro y generalmente rodeadas de una cápsula nítida. El color de las colonias, debido a los carotenoides, es de amarillo-rojizo a amarillo-pálido, a veces naranja-pálido. La absorción máxima de los pigmentos crudos, extraídos de las células, en medio papa-extracto de levadura, es de 450mu. La reacción del iodo con el almidón, en el caldo de cultivo, es generalmente positivo. Los cultivos, en el subgénero, requieren, comunmente, tiamina, debido a la deficiencia de ambas mitades: pirimidina y tiazol. "Como se puede apreciar en la estructuración del género, se emplean características que difieren poco de las clásicas del género, dadas por Lodder y Kreger van Rij (1), pero, en la definición de los subgéneros, se utiliza, categoricamente, el tamaño de las células, su forma y color y, también, la concentración de los pigmentos. Además, se emplean las necesidades vitamínicas como características subgenéricas. Son interesantes las apreciaciones que sobre el género Rhodotorula hacen Skinner y Huxley (25). Al estudiar 99 aislamientos, que tratan de ordenar, según las claves de Lodder y Kreger van Rij (1), llegan a expresar la dificultad de clasificación, lo que les induce a transcribir lo

que ya en 1930 había dicho Henrici (26): " Se ha dado una variedad de nombres específicos, como glutinis, mucilaginoso, rubra, sanguinea, etc., que sirven para indicar el mas llamativo caracter del grupo, principalmente un desarrollo pegajoso o mucosoide y un color rojo. Se han creado especies en base a la variación morfológica de las células, por ejemplo, a la tendencia a formar células ovales o elípticas o a producir pseudomicelio, diferencia en la consistencia de los cultivos, sobre las variaciones del color producido y, a veces, por razones no bien establecidas. Despues de observar un considerable número de cepas de estas levaduras rojas, de colecciones de cultivos-tipos y de las aisladas por mi, el autor es puesto en duda referente a la unidad o pluralidad de especies.. " Henrici sigue con las observaciones de la mucosidad, en algunas colonias, en otras encuentra que al principio eran mucosoides, despues se hacen secas y plegadas y llega a la conclusión que, sobre esas bases, es imposible hacer diferencias. Según Henrici, el nombre genérico glutinis parece ser el mas antiguo aplicado a estas levaduras rojas. La evolución de las técnicas de estudio fueron haciendo disminuir el número de especies, primeramente a 13 especies y 10 variedades, en 1934, con Lodder (10), y a 7 especies y 1 variedad, en 1952, con Lodder y Kreger van Rij (1). Sin embargo, aún en esta última fecha, estas autoras empleaban, en algunos casos, la morfología, para

distinguir especies entre si. Skinner y Huxley (25), utilizando gran cantidad de fuentes de carbono, y comparando los resultados obtenidos frente a lo que se considera la cepa auténtica con los obtenidos con las cepas recién aisladas, comprueban que, muchas veces, tienen tantos resultados positivos como negativos con determinadas fuentes. Reconocen que, en cambio, existen otras que siempre se comportan en la misma forma. De 64 cepas aisladas, por estos autores, de Rhodotorula mucilaginosa, de acuerdo con los resultados obtenidos frente a tantos azúcares, podrían estructurarse 9 especies diferentes y dicen: "Por supuesto, nosotros no sugerimos que el género Rhodotorula sea revisado, sustituyendo por el nuevo criterio al que ahora está en uso y aumentar el número de especies, creando una cantidad de ellas. Mejor, nosotros sugerimos que ya que las características morfológicas y tintoriales, lo mismo que las fisiológicas, no han sido halladas prácticas, que ello obliga a ser muy conservador en nuestra taxonomía." Como es lógico, estos autores no descartan que las propiedades fisiológicas tienen su sitio en la taxonomía de las levaduras. Ellos no ven clara la separación de especies en Rhodotorula, basada en la morfología. Creen que antes de resolver que características deben emplearse para estudiar un género determinado, debe establecerse, previamente, cuales son las características a tomarse en cuenta y efectúan la comparación de que

cuando se estudia Hansenula, por la técnica de Wickerham, esta aparece practicable, pero cuando se le quiere emplear en Rhodotorula, no lo es. Finalmente, Skinner y Huxley (25) se inclinan a considerar al género Rhodotorula como monotipo: Rhodotorula glutinis. Posiblemente, es en el género Rhodotorula en el cual deben tenerse mas en cuenta una serie de circunstancias; Wickerham (17) reconoce, en el prefacio de su trabajo, que la morfología es muy variable y que, por lo tanto, ha perdido mucho del valor que se le adjudica. Varios años antes, ya Wickerham y Retger (27) habían puesto en evidencia la variación y colocación de las células. Scher y Weaver (28), en un extenso e interesante trabajo, consideran el fenómeno de dimorfismo, en levaduras. En su resena histórica, citan a varios autores, que encontraron formas filamentosas en Saccharomyces cerevisiae, en determinadas condiciones de cultivo. Los autores citados encaran, en su estudio, la tendencia hacia la forma levaduriforme (Y), en diversos hongos; levaduras y hongos filamentosos que adquieren la forma levaduriforme en algún momento de su desarrollo. En lo referente a la temperatura, encuentran a esta como uno de los elementos ambientales mas importantes: un cultivo de Saccharomyces cerevisiae a 16-18°C muestra brotación múltiple y células más largas que el que crece a temperatura alta. Una serie de hongos filamentosos, como Coccidioides immitis, Histoplasma capsulatum etc.,

necesitan, para mantenerse "in vitro", en su forma esferular o levaduriforme, otros factores, además de la temperatura. La adicción de sangre en los cultivos es evidente. Estos factores necesarios serían de índole nutricional. Nickerson y van Rij (29) encuentran el característico efecto de la cisteína sobre Candida albicans, produciendo células hifales cortas, con espaciados grupos de blastosporos. Nickerson (30) opina que el mantenimiento de Candida albicans, en la fase levaduriforme, cultivada en un medio complejo, influye la presencia de glucosa reducida. Cuando este azúcar es sustituido por almidón, libre de glucosa, se desarrolla una abundante filamentización. El mismo autor encuentra que, agregando cisteína a su medio, con glucosa-glicerina-extracto de levadura, consigue conversión M.... Y en una mutante de Candida albicans, que solo crece en forma filamentosa. Nickerson, al explicar este hecho, involucra la respiración endógena de las células y otros factores. Remitimos el lector interesado al trabajo original. Wickerham y Retger (27) encuentran que una abundancia de oxígeno reduce la producción de hifas, en Candida albicans. Es precisamente en este hecho en que se basa la técnica de Dalmau (cubre objeto sobre el cultivo), para el estudio de la filamentización, en levaduras. Efecto de la edad del cultivo: Es sumamente frecuente la observación que, en tubos de mucho ti-

empo en colección, generalmente deshidratados, muchas levaduras aparecen emitiendo filamentos y, sin embargo, esas mismas levaduras, en ocasión de ser estudiadas, con materiales frescos, han sido identificadas como pertenecientes a géneros no filamentizantes. Efectos de variados agentes: Es conocida la acción de los alcoholes altos, que producen formas anormales. Ciertos iones metálicos, como cobalto y boro, inducen a Y.....> F. La acción de ciertos antibióticos, como la penicilina, ha sido bien estudiada. Solo hemos nombrado algunos de los factores que pueden influir en la morfología. Pero es de notar que estos factores obran momentaneamente, es decir, provocan la alteración morfológica, mientras dura su acción. Al efectuar el estudio de una levadura, debemos tener en cuenta, también, una serie de fenómenos hereditarios y estables sumamente frecuentes y que constituyen lo llamado variación o, también, producción de mutantes. Mutaciones inducidas por acción de sustancias químicas o radiaciones son bien conocidas y están bien estudiadas por Lodder y Kreger van Rij (1), en el capítulo tercero de su obra. También son observables mutaciones o variaciones espontáneas, que son las que, en realidad, nos interesan en el presente caso, y, especialmente, en el género motivo de estas líneas. Mackinnon y Artagaveytia-Allende (2), por plaquedos sucesivos de una cepa de Rhodotula mucilaginoso, originariamente lisa, obtuvie-

ron colonias rugosas (R), lisas (S) y, también, el tipo mucosoide (M). También aparecieron tipos hipopigmentados. Esto se comprende al aceptar el criterio microbiológico de que una colonia microbiana es el conjunto de los diversos tipos o formas en que puede presentarse el germen. Referente a la depigmentación espontánea de levaduras rojas, los autores arriba citados exponen su observación de que, en un cultivo de Rhodotorula, apareció, espontáneamente, una colonia blanca, que fue considerada, en aquella fecha, como Candida flareri. Lodder y Kreger van Rij (1) discrepan en lo que se relaciona con la identificación de esta forma depigmentada. Artagaveytia-Allende (3) también obtuvo colonias blancas, plaqueando una Rhodotorula aislada de un raspado de piel humana. Ultimamente, Fragner (32) crea la variedad alba de Rhodotorula mucilaginosa, también obtenida por mutación espontánea. Estudios antigénicos en Rhodotorula: En los últimos años, autores japoneses, Tsuchiya y colaboradores (37), encaran la serología como método de clasificación en el género Rhodotorula y, después de estudiar la presencia de antígenos termoestables (no han podido probar la existencia de antígenos termolábiles, empleando las técnicas usuales), encuentran que la estructura de las especies del género pueden ser indicadas por medio de análisis antigénicos. Piensan que la clasificación del género Rhodotorula puede ser establecida no solo fisiológicamente, sino,

tambien, serologicamente, como en el género Salmonella. Estos autores estudian las especies admitidas por Lodder y Kreger van Rij(1), menos Rhodotulula flava. Yonezawa (38) compara el esquema serológico de cepas-tipo con los de otras cepas aisladas de diversas fuentes. Las características biológicas de las cepas fueron examinadas por las técnicas usuales y, tambien, serologicamente. Ambos métodos concordaron, excepto en dos cepas. Por consecuencia, opina este autor, la estructura antigénica puede ser base para clasificar el género Rhodotulula. A la serología se le va adjudicando cada dia mayor valor, como elemento de diagnóstico de especie. Esto va en contra de la idea, generalmente sustentada, de que solo sirve para determinar grupo serológico y no especie. Estas técnicas, con ciertas levaduras pertenecientes al género Candida, no se comportan tan categoricamente exactas. Artagaveytia-Allende (39) encuentra que, al considerarse a Candida robusta sinónimo de Candida tropicalis y como Candida robusta ha sido considerada la forma haploide de Saccharomyces cerevisiae, se observa que, si bien las reacciones biológicas concuerdan, la serología permite estructurar dos grupos serológicos (Saccharomyces cerevisiae y Candida robusta por un lado y Candida tropicalis por otro). El concepto de que a la serología, en el momento actual, solo se le puede adjudicar valor para estructurar grupos, es apoyado por técnicos de alta experiencia en sero-

logía bacteriológica, como el Prof. Estenio Hormaeche (40), quien cita el caso de que cuando se pretendió considerar especies a los grupos serológicos en Salmonella, esta idea fue rechazada. Santa Maria (41) opina que, no habiendo sido adjudicado valor de definición de especie a la serología en bacteriología, no puede serlo en micología, terreno en el cual se conoce menos el tema. Desde luego, que los autores que han abordado el tema en levaduras solo indican estos métodos como co-ayudantes. Nosotros, ni por un momento, pretendemos negar valor al método serológico, pero en este caso pensamos que si en algún momento se encontrase exacta concordancia de resultados, como parece existir en el género Rhodotorula, el método sería practicable, pero si al estudiarse muchas cepas de una misma especie (morfología y biología) se encontrasen discrepancias, el problema adquiriría relieve insospechado. Discusión: Durante mucho tiempo, existió un verdadero caos en la identificación de las levaduras, pues cada autor empleaba técnicas a su gusto. La magnífica obra de Lodder y Kreger van Rij (1), empleando, a su vez, técnicas morfológicas y biológicas, sacó a los micólogos de su complejo problema. Posiblemente empléen una técnica por demas simple, lo que llevó a otros autores a emplear mas pruebas. Posiblemente estos últimos tengan también algo de razón. En los últimos anos, las necesidades vitamínicas con relación a la temperatura y también

su valor taxonómico, han sido estudiadas por van Uden y Farinha (33) y por Van Uden y Carmo-Sousa (34). Estos autores dan gran importancia a este tipo de reacciones, en las que se basan, en gran parte, para crear nuevas especies. Comparando los resultados obtenidos con vitaminas y los obtenidos en las pruebas de fuentes de carbono, aún empleando múltiples de estas, parece que las primeras son más constantes que las segundas. Ya vimos que, en la creación de subgéneros, en Rhodotorula, por Hasegawa (22 y 24), como definición genérica se indican las necesidades vitamínicas. Los autores japoneses Hasegawa, Banno y Yamauchi (24), como vimos, crean dos subgéneros. En uno de ellos, Flavotorula, agrupan muchas levaduras, que serían pertenecientes al antiguo género Chromotorula. En las claves para los dos subgéneros efectúan una división neta entre las especies que requieren esencialmente ácido p-aminobenzoico (PABA) y las que no lo requieren. Dentro de la clave, esta necesidad adquiere la misma jerarquía que la utilización, o no, del nitrato de potasio. Sería similar esta jerarquía a la que adjudican Lodder y Kreger van Rij (1) al nitrato, en su clave del género Rhodotorula. Para adjudicar gran valor taxonómico a las necesidades vitamínicas, estas deben estar relacionadas, estrechamente, con otros factores. Cuesta creer que, en el caso de tener varias cepas pertenecientes, sin duda alguna, a determinada especie, el hecho de que al-

guna de estas cepas requiera determinada vitamina autorice a crear una nueva especie. Como en el subgénero Flavotorula incluyen algunas especies que, según Lodder y Kreger van Rij (1), serían Cryptococcus, dan valor a la reacción del almidón. Ya conocemos la opinión de Wickerham (21) sobre esta reacción, como característica genérica. Referente a la serología, ya hemos emitido nuestra opinión, al efectuar los comentarios. Es verdad que, en la práctica diaria, las levaduras rojas, por su pigmento visible, no pueden confundirse con otras pertenecientes a otros géneros, por ejemplo, Sporobolomyces, pues éstos presentan esterigmas y balistosporos. Ultimamente, han sido descritos dos nuevos géneros, para levaduras rojas: uno de ellos es Dioszegia, con una sola especie, Dioszegia hungarica (35), que presenta, como característica genérica, las gemaciones pedunculadas. El otro género es Byrrha, también con una sola especie, Byrrha portio-vaginalis (36). En la definición genérica, sus autores la describen con color amarillo a rojo y 4 a 8 esporos por asco. La definición de la especie hace pensar en Rhodotorula mucilaginosa, salvo los ascos. Pero no podemos olvidar el problema que representan las levaduras rojas, que, espontáneamente, dan, en plaquedos, alguna colonia blanca, ya se los considere variedad o en otra forma. No pretendemos que los sistemas de clasificación sean dogmáticos, inconvencionales; lejos de eso, deben adaptarse

se a los conocimientos del momento y, por eso, vemos que unos conceptos pasan delante de otros y pensamos como Boidin, Abadie, Jacob y Pignal(42), cuando dicen: " Una clasificación natural no puede ser mas que la consideración de todos los datos acumulados; en una palabra, la sistemática debe ser una síntesis de las disciplinas mas variadas. Esto, todos los autores modernos lo han comprendido y resaltado". Referente a la creación de géneros o subgéneros, pensamos que sería mas interesante obrar como Phaff (43), al reestructurar Pichia, quien amplía el concepto de antiguos géneros, atenuando, al mismo tiempo, el valor de ciertos datos. Empleando este concepto, se podría, en lugar de crear nuevas entidades genéricas, ampliar o modificar géneros relegados y traérllos a uso. Este evitaría la presencia de nuevos nombres. Es preferible, siempre, un nombre conocido, ampliado o modificado. La temperatura es un factor de identificación de poco valor, en general, y tan es así que Lodder y Kreger van Rij (1), en su obra, no la toman en cuenta; todas sus observaciones son efectuadas a la misma temperatura y solo raramente mencionan otra. Pensamos que esta podría tener valor en el caso de separar, netamente, un germen patógeno de otro no patógeno. Esto sería solamente del punto de vista estrictamente práctico. Sería el caso de Cryptococcus neoformans y Cryptococcus luteolus, de gran interés médico, el primero. En lo que respecta a la nueva

tendencia a crear "grupos", debemos manifestar que al estructurar los nuestros, tomamos solamente en cuenta el hecho de existir varias especies nuevas y, también, otras ya conocidas, que se parecen a otra que tiene prioridad. En cambio, otros autores, como Phaff y Carmo-Souza (44), al estructurar el "grupo" Candida parapsilosis, dentro del género Candida, toman, como base para diferenciar, entre si, nuevas especies, que caen dentro del "grupo", azúcares, en este caso la celobiosa, que, sin embargo, ha sido tomada por Wickerham, al estudiar alguna de las Hansenula, como de valor secundario, ya que afirma que "la mitad de las razas asimilan celobiosa, como melazitosa y almidón soluble". Además, aquellos autores, en la estructuración de ese "grupo", para diferenciar especies entre si, se basan exclusivamente en pequeños detalles de intensidad de fermentación y algunas asimilaciones. Pensamos que sería más práctico considerar a todas o casi todas estas nuevas especies, que se diferencian, en detalles mínimos, de la cepa tomada como tipo del "grupo", como variedades o razas. Si, en realidad, siempre refiriendonos al "grupo" Candida parapsilosis, la celobiosa se comportase de una manera constante, y no como lo observa Wickerham, en Hansenula, caeríamos en la idea de Skinner y Huxley, que exige que antes de estudiar un género, en este caso un "grupo", se determine cuales son las pruebas que deben emplearse. La enorme proliferación de nue-

vas especies, basadas en reacciones diferentes que las empleadas comunmente, lleva a un ~~nuevo~~ caos, que crea profunda preocupación a los que se dedican a estas disciplinas, porque, en breves años, será practicamente imposible identificar una especie. Con las nuevas ideas, el término "especie" se hace cada vez mas estricto, en lugar de hacerse mas laxo, como parece indicar la cantidad enorme de factores que vamos conociendo dia a dia, y que pueden influir en la morfología y biología de las levaduras.

RESUMEN

El género Rhodotorula tiene como característica genérica la presencia visible de pigmento. Este es influenciado por diversos factores, como la temperatura entre otros, además la composición y la edad del medio de cultivo, que actúan preponderantemente. Es un género en el cual se ha observado gran influencia de los medios de cultivo sobre el aspecto macroscópico de las cepas. Las mutaciones o variaciones son claramente observables, lo mismo que la aparición de variantes depigmentadas. Con la finalidad de tener mas elementos de diagnóstico, se ha aumentado el número de pruebas, lo que ha llevado a describir gran número de nuevas especies, que difieren de las conocidas hasta 1952, en los resultados de asimilación de esas fuentes de carbono. Se han creado subgéneros, con la finalidad de agrupar, en el gé-

nero Rhodotorula, muchas especies que hoy se admiten como pertenecientes a otros géneros. La serología, en el género Rhodotorula, está en sus comienzos y, mientras no adquiera mas jerarquía, solo servirá para crear grupos serológicos. La multiplicación de pruebas lleva a la dificultad de la identificación, a causa de la imposibilidad de disponer de todas ellas y, también, a causa que los autores no siguen un plan estricto. Esto lleva a la obligación de considerar las cepas aisladas como pertenecientes a tal o cual grupo.

REFERENCIAS

- 1) Lodder and Kreger van Rij N.J.W. The Yeasts, Amsterdam, 1952
- 2) Mackinnon J.E. y Artagaveytia-Allende R. C. Comun. Bot. Museo Hist. Nat. Montevideo, 1, Nº 13, 1944
- 3) Mackinnon J.E. Zimología Medica, Montevideo, 1946
- 4) Novak E.K.-Zsolt J. Acta Botanica, 7:93, 1961
- 5) Reiersol S. Ant. van Leeuw., 21: 286, 1935
- 6) Shifrine M. and Phaff H.J. Mycologia, 48: 41, 1956
- 7) Nakayama T., Mackinney G. and Phaff H.J. Ant. van Leeuw., 20: 217, 1954
- 8) Koehler H. Dic. latino-portugés, Porto Alegre, 1943
- 9) Hedrick L.R. and Burke G.C. Mycop. et Mycol. Appl., 6: 92, 1951
- 10) Lodder J. Die anaskosporogenen Hefen, Amsterdam, 1934

- 11) Menna M. di Jour. Gen. Microb., 18: 269, 1958
- 12) Phaff, H.J., Mrak E.M. and Williams O.B. Mycologia, 44: 431, 1952
- 13) Kobayashi T. Report of Wood Saccharification. Discussion Committee, 2: 93, 1953 (citado y ampliado por Hasegawa, en Jour. Ferment. Tech., 36: 194, 1958).
- 14) Frederiksen S. Friesia, 5: 234, 1956
- 15) Hasegawa T. Jour. Gen. Appl. Microbiol., 5: 30, 1959
- 16) Verona O. ed Montemartini A. Att. Ist. Bot. Univ. Lab. Critt. Pavia, Serie 5, 17, 1959
- 17) Wickerham L.J. Taxonomy of Yeast, U.S. Depart. Agric. Rech. Bull., n^o 1029, may 1951
- 18) Harrison F.C. Trans. Roy. Soc. Can V-22: 187, 1928
- 19) Saito K. Japanese Jour. Bot., 1: 1, 1922 (citado por Hasegawa, Banno and Yamauchi (22))
- 20) Hasegawa T. Jour. Ferment. Tech. Japan, 36: 194, 1958
- 21) Wickerham L.J. Ann. Rev. Microbiol., 6: 317, 1952
- 22) Hasegawa T., Banno I. and Yamauchi S. Jour. Gen. and Appl. Microbiol., 5: 200, 1960
- 23) Etchell J.L., Bell Th. A. and Jones I.D. Farlowia, 4: 265, 1953
- 24) Hasegawa T., Banno I. and Yamauchi S. Jour. Gen. and Appl. Microbiol., 6: 196, 1960
- 25) Skinner C.E. and Huxley M.J. Mycologia., 48: 371, 1956
- 26) Henrici A.T. Molds, Yeasts and Actinomycetes, New York 1930
- 27) Wickerham L.J. and Retger L.F. Jour. Trop. Med. and Hyg., 42: 174, 189, 204, 1939

- 28) Scherr G.H. and Weaver R.H. Bact. rev., 17: 51, 1953
- 29) Nickerson W.J. and Kreger van Rij, N.J.W. Biochim. et Biophys Acta, 3: 461, 1949
- 30) Nickerson W.J. Arq. V Cong. Inter. Microbiol., Rio de Janeiro, vol. 2: 174, 1961
- 31) Artagaveytia-Allende R.C. Arch. Soc. Biol. Montevideo, 19: 37, 1952
- 32) Fragner P. Ceska Mykologie, 11: 211, 1957
- 33) Uden N. van and Farinha M. Portugaliae Acta Biol. (B), 6: 161, 1958
- 34) Uden N. van and Carmo-Sousa L. Portugaliae Acta Biol. (B), 6: 239, 1959
- 35) Zsolt Janos Batanikai Közlemenyek, 47: 63, 1957
- 36) Batista A. Chaves, Monier D. e Silveira J. Trabajo presentado en VI Cong. Inter. Med. Trop., Lisboa, 1958
- 37) Tsuchiya T., Fukazawa Y., Ameniya S., Yonezawa M. and Suzuki K. Yokohama Med. Bull., 8: 215, 1957
- 38) Yonezawa M. Juntendo Med. Jour., 5: 44, 1959
- 39) Artagaveytia-Allende R.C. Estructura serológica: algunas consideraciones referentes a ciertas especies del género Candida (a publicarse en Mycopathologia et Mycologia applicata)
- 40) Hormaeche Estenio, Comunicación personal
- 41) Santa Maria Juan, Comunicación personal
- 42) Boidin J., Abadie F., Jacob J.L. et Pignal M.C. Bull. Soc. Mycologique de France, 78: 155, 1962

- 43) Phaff H.J. Ant. van Leeuw., 22:113, 1956
44) Phaff H.J. and Carmo-Sousa L. Ant. van Leeuw.,
28: 193, 1962

RESUMO

O gênero Rhodotorula tem, como característica, a presença visível de pigmento. Este é influenciado por diversos fatores, a temperatura entre outros, além da composição e idade do meio de cultivo, que atuam preponderantemente. Nesse gênero, tem-se observado grande influência dos meios de cultura sobre o aspecto macroscópico das cêpas. As mutações ou variações são claramente observáveis, assim como o aparecimento de variantes despigmentadas. Com o objetivo de dispor de mais elementos para o diagnóstico, tem-se aumentado o número de provas, do que resultou a descrição de muitas novas espécies, que diferem das que eram conhecidas até 1932, segundo a diversificação de sua assimilação de várias substâncias dessas fontes de carbono. Criaram-se subgêneros, agrupando-se, no gênero Rhodotorula, muitas espécies que, hoje, se admitem como pertencentes a outros gêneros. A serologia, no gênero Rhodotorula, está no comêço, e, enquanto não se desenvolver, motivará somente a criação de grupos serológicos. A multiplicação de provas enseja a dificuldade de identificação por causa da impossibilidade da realização de tôdas elas e, também, porque os autores não seguem um plano delimitado. Isso motivava a obrigação de considerar as cêpas isoladas como pertencentes a tal ou qual grupo.

ABSTRACT

The genus Rhodotorula has as characterization the visible presence of pigment. This is being influenced by various factors as the temperature besides the composition and age of the culture medium, which are preponderable activ. In this genus great influence of the culture on the macroscopic aspect of the strains is observed. The mutations and variations can clearly be observed as well as the appearance of dispigmented variants. With the intention to dispose on more elements for the diagnosis the number of experiments was increased producing the description of many new species which differed from those known until 1932 according the diversity of their assimilation of these carbon sources. Sub-species were created and many species which are today considered to belong to other genus, were grouped in the genus Rhodotorula. The serology in the genus Rhodotorula is at the beginning, and as long as it does not develop only serological groups will be created. The multiplication of experiments increases the difficulty of identification due to the impossibility to carry out all of them and also because the authors do not follow a limited scheme. This establishes the obligation to consider the isolated strains as belonging to one or to other group.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Gattung Rhodotorula hat als Charakteristik die sichtbare Anwesenheit von Pigment. Dieses wird beeinflusst durch diverse Faktoren, unter anderen die Temperatur, ausser der Zusammensetzung und Alter des Kulturmedium, Welche vorwiegend taetig sind. In dieser Gattung wurde grosser Einfluss des Kulturmediums ueber das macroscopische Aussehen der Staemme beobachtet. Die Verstuemmelungen und Veraenderungen sind klar zu beobachten, ebenso wie das Erscheinen von despigmentierten Varianten. Mit der Absicht ueber mehr Elemente fuer die Diagnostik zu verfuegen, wurde die Zahl der Versuche erhoehrt, was die Beschreibung von vielen neuen Arten ergab, die sich von denen die bis 1932 bekannt waren unterscheiden, gemaess der Verschiedenartigkeit ihrer Assimilation dieser Kohlenquellen, Unterarten wurden geschaffen, und viele Arten die man heute als zu anderen Gattungen gehoerend annimmt, wurden in die Gattung Rhodotorula gruppiert. Die Serologie in der Gattung Rhodotorula ist am Anfang und solange sie sich nicht entwickelt, wird sie nur sorologische Gruppen schaffen. Die Vervielfachung von Versuchen vermehrt die Schwierigkeit der Identifikation infolge der Unmoeglichkeit sie alle durchzufuehren und auch weil die Verfasser nicht einem begrenzten Plan folgen. Das begruendet die Verpflichtung die isolierten Staemme als zu dieser oder jener Gruppe gehoerend zu betrachten.

IMJR, 10.7.1963
"Costa"