

COMUNICACIONES BOTANICAS DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL DE MONTEVIDEO

Número 13

1944

Volumen I

LAS LEVADURAS ROJAS DEL GÉNERO *RHODOTORULA* HARRISON, EMM. LODDER, DE ACUERDO CON LOS CONOCIMIENTOS ACTUALES SOBRE VARIACIÓN MICROBIANA

J. E. MACKINNON & R. C. ARTAGAVEYTIA-ALLENDE

HARRISON creó el género *Rhodotorula* para las levaduras anasco-sporógenas sin micelio y con pigmento rojo. LODDER, en 1934 (1), instituyó la familia *Rhodotorulaceae*, dentro de la cual sólo reconoce un género, *Rhodotorula*, con una acepción más amplia que la que le dió HARRISON, pues abarca las especies amarillas del género *Chromotorula* del mismo autor. LODDER argumenta que es imposible establecer un límite preciso y definido entre especies rojas, amarillo-rojizas, anaranjadas o amarillas. Consideramos acertado este criterio, pues es posible partiendo por disociación obtener de levaduras rojas, razas decolorcadas o hipopigmentadas.

LODDER define el género de la manera siguiente: "*Células redondas, ovals, alargadas, derechas, estalagmoides o incurvadas. Multiplicación por gemación. Produce un pigmento, desde amarillo a rojizo, de naturaleza carotinoide. No fermenta. Elección de la glucosa siempre positiva y también de otros azúcares por la mayor parte de las especies. El sulfato de amonio, la asparagina, la urea y la peptona son siempre asimilados. Con alcohol etílico, como substrato de crecimiento, se observa desde escaso hasta buen crecimiento.*"

Trece especies reconoce LODDER. Varias han sido halladas en el hombre, pero su real acción patógena está aún por ser probada.

Nosotros hemos aislado varias veces del hombre y de las uvas, la especie *Rhodotorula mucilaginosa*. Hemos identificado a *Rh. glutinis* una cepa aislada por SCHOUTEN de secreción vaginal, en la Asunción, Paraguay. También estudiamos una cepa de *Rh. minuta* y otra de *Rh. rubra* procedentes de la Facultad de Medicina de París. Hemos logrado observar algunas variaciones de interés para el estudio de la sistemática del género y de las levaduras anascoesporadas. La obtención por algunos autores de variantes depigmentadas y nuestra observación de un pseudomicelio, nos muestran el débil fundamento de las actuales clasificaciones.

Otro hecho interesante es que algunas especies no son autotróficas para la tiamina y otros factores de crecimiento, hechos que deben ser considerados cuando experimentamos con cultivos en medios sintéticos.

Algunos autores modernos, como DODGE (2), no admiten el género *Rhodotorula* y clasifican estas especies rojas, con CIFERRI & REDAELLI, en el género *Torulopsis* Berlese (= *Cryptococcus*). BENHAM (3), en un trabajo casi simultáneo a la monografía de LODDER, utiliza la denominación genérica *Cryptococcus* Kützing. Divide sus cultivos en cuatro grupos, comprendiendo en el cuarto las especies con pigmento rosado. A su vez, el cuarto grupo de BENHAM es dividido en tres tipos, los tipos A y B corresponden a especies de *Rhodotorula* y el C a cepas con pigmento difusible, como *Torulopsis pulcherrima*.

En nuestra exposición describiremos, primero las variaciones observadas en el género por diversos autores y por nosotros; en segundo lugar, describiremos las especies admisibles, teniendo en cuenta los fenómenos de variación. Para ello nos fundamentaremos en la monografía de LODDER, sin la cual no sería posible este trabajo.

I. — Variaciones en especies del género *Rhodotorula* Harrison, emm. Lodder.

A la escuela rusa de NADSON debemos las primeras observaciones sobre la acción de los rayos X sobre las levaduras rojas con cápsula. NADSON & PHILIPPOV, en 1928 (4), y luego NADSON, en 1937 (5), detallaron experiencias en las cuales lograban, partiendo de cultivos lisos y capsulados, colonias rojas, arrugadas o cerebriformes, compuestas de células sin cápsula mucilaginosa. También lograron razas decoloradas. Se trataría de dos tipos de variación que pueden aparecer independientemente, pero también sucesiva o simultáneamente en una misma cepa, dando origen a razas decoloradas-rugosas. De acuerdo con el aspecto de su superficie, NADSON califica las colonias en *lisses*, *mamelonnées*, *plissées* y *sétifères*.

NADSON, en 1937, se refiere a experiencias de PHILIPPOV en *Torulopsis glutinis* (= *Rhodotorula glutinis*) y es más preciso en su terminología. De cultivos rojos, lisos y brillantes, obtiene por acción de los rayos X, cultivos de color naranja, amarillos, amarillo-marrón y blancos que pueden perder también su brillo para volverse lisos mates, mamelonados y finalmente arrugados. PHILIPPOV halló en la naturaleza las mismas "razas" que obtuvo por acción de los rayos X, por lo cual se puede pensar que las variaciones inducidas por los rayos X se producen también espontáneamente.

Los trabajos de los autores rusos son dignos de gran consideración por el método y la técnica, pero no es posible, de acuerdo con los actuales conocimientos, asegurar que hayan trabajado con *Rhodotorula glutinis*. Lo fundamental de esos trabajos no puede, en cambio, ser discutido.

Realizamos nuestras observaciones en *Rhodotorula mucilaginosa*. Son de dos clases, consisten las primeras en el aislamiento simultáneo de lesiones cutáneas del hombre, de colonias de levaduras rojas de distinto aspecto macroscópico; las segundas se refieren a experiencias de disociación, es decir, a la obtención partiendo de cultivos puros, de distintos tipos de colonias con caracteres que se mantienen hereditariamente.

1. — *Colonias de distinto aspecto obtenidas de un mismo paciente.*

Una primera observación se realizó en un caso de ónixis de las manos y de los pies. Por el examen directo se había observado la presencia de un hongo levaduriforme. En todos los puntos de siembra desarrolláronse colonias de levaduras. Las colonias eran de tres tipos, cuyas características se conservaron en los repicados sucesivos. En efecto, unas colonias eran rojas lisas y casi sin brillo; las otras colonias eran rojas, mates y rugosas y, a veces, plegadas y cerebri-formes; además, crecieron dos colonias blancas que consideraremos más adelante. Creímos posible que los dos tipos de colonias rojas representaran las formas "S" (*smooth*) o lisa y "R" (*rough*) o rugosa de las bacterias. La morfología microscópica de ambas cepas, "S" y "R", era idéntica, pero las células de la forma rugosa tendían a formar conglomerados, siendo imposible obtener suspensiones homogéneas en solución fisiológica o en medios líquidos. Las células de ambas formas poseían una membrana de doble contorno no coloreable con el azul-ectón, de espesor igual en todas partes. Algunas raras células de la forma "S" parecían tener una cápsula mucilaginosa, lo cual no era observado en las células de la forma "R". Los cultivos "S" y "R" tienen las mismas propiedades biológicas, propias de *Rh. mucilaginosa*.

Las colonias blancas fueron identificadas a *Candida Flareri* y están en fase "S"; este hecho es muy curioso y sugestivo, pues *C. Flareri* es una especie rarísima vez encontrada (segundo caso) y posee propiedades biológicas idénticas a *Rh. mucilaginosa*, excepto en que no utiliza la urea como fuente de nitrógeno en medio sintético, pero utiliza la urea cuando al medio de cultivo se incorporan células muertas, por calentamiento a 90° grados, de *Rh. mucilaginosa* que había crecido en gelosa de SABOURAUD.

Una segunda observación, semejante a la anterior, fué realizada en cultivos de escamas epidérmicas de un caso de eczema marginada. En los cultivos, además de la especie patógena *Epidermophyton floccosum*, aparecieron dos tipos de colonias de levaduras rojas. Una de ellas produjo cultivos lisos, brillantes y de consistencia mucilaginosa; la otra proporcionó cultivos lisos, casi mates y no mucilaginosos. En los tubos parados los cultivos mucilaginosos se deslizan al fondo del

tubo. Las propiedades bioquímicas de ambos cultivos son iguales. Las células poseen la misma forma y dimensiones, pero las de los cultivos mucilaginosos están englobadas en una substancia mucoide muy poco consistente y muy bien visible en frotos preparados con suspensiones en tinta china (método de BURRI) y coloreados luego con azul-cotón. La substancia mucoide rodea grupos de numerosas células. No debe ser confundida esa substancia capsular mucoide con la membrana de doble contorno de bordes nítidos y espesor igualmente nítido y uniforme. Con mucha facilidad, al hacer los frotos, algunas levaduras se escapan de su envoltura mucoide, observándose en consecuencia glóbulos de substancia mucoide sin levaduras en su interior y levaduras sin cápsula mucoide. Los cultivos lisos, no mucilaginosos, están formados por células que en general no tienen cápsula mucoide, pero pueden aparecer algunas raras células provistas de esa cápsula. La forma mucilaginosa forma en soluciones salinas hilos mucoides. La forma lisa, no mucilaginosa, proporcionó con facilidad suspensiones homogéneas. Creemos que los cultivos mucilaginosos pueden ser homologados a la forma "M" o mucoide o "liso-mucoide" de las bacterias y la forma lisa, casi mate, a la forma lisa o "S" de las bacterias.

En un tercer caso, también dos tipos de levaduras rojas fueron cultivados de lesiones de los pies producidas por un estreptococo. Unas colonias eran muy mucilaginosas, las más mucoides que hemos visto; lisas y brillantes. Otras colonias eran mates y rugosas, a veces plegadas y con alguna consistencia. Las propiedades biológicas de ambas cepas son idénticas, la forma y dimensión de las células iguales. Con ambas cepas es difícil obtener suspensiones homogéneas, pues una da hilos mucosos y la otra grumos, en solución fisiológica, quedando claro el líquido intermediario. Clasificamos estas cepas como forma mucoide o "M" y forma rugosa o "R".

2. — *Obtención de variantes o disociación de cultivos puros.*

La experiencia que tenemos es aún escasa, pues nos hemos limitado a observar las posibles modificaciones que espontáneamente se produzcan en los cultivos.

La forma rugosa o "R" del primer caso (cepa 652), fué purificada por cultivo monocelular, utilizando el procedimiento aconsejado por PUNKARI & HENRICI (6). Por dos años el cultivo conservó su aspecto rugoso, pero luego tomó aspecto mucilaginoso o "M".

La forma "R" del tercer caso (número 720), sembrada en medio rico, produjo una colonia gigante del tipo "R", con algunos sectores de aspecto más liso, que proporcionaron cultivos intermediarios entre "S" y "R", pero luego, esos cultivos volvieron a la fase "R".

La forma mucoide del tercer caso (cepa 719), produjo durante

cierto tiempo cultivos tipo "S", pero luego volvió a producir cultivos tipo "M".

Además de estas experiencias sobre las fases "M", "S" y "R", logramos otras sobre decoloración en la cepa 720 en la fase "R", que originalmente era de color rojo escarlata y que produjo, por medio de experiencias de disociación, razas menos pigmentadas, rosadas o anaranjadas, que se conservaron con ese carácter.

Algo parecido se logró en la fase "M" (cepa 669). Se obtuvo cultivos muy pigmentados y otros pocos pigmentados. Es preciso tener en cuenta que las cepas en fase "M" no son tan intensamente coloreadas como las cepas en fase "S" o "R"; esto debe ser debido a que la sustancia mucoide que forma gran parte de la masa del cultivo es incolora; por este motivo, no nos creemos autorizados a asegurar que hayamos obtenido variantes hipopigmentados de *Rh. mucilaginoso* en la fase "M". Los cultivos en fase "S" son aparentemente los más pigmentados, llegando a veces a tonos violáceos.

Consideraciones. — Nuestras experiencias en *Rh. mucilaginoso* confirman las de NADSON & PHILIPPOV en *Rh. glutinis*. Además, homologamos las variantes obtenidas a las tres principales fases de las bacterias: mucoide, lisa y rugosa. De acuerdo con las descripciones, la fase mucoide parece ser la normal en el género *Rhodotorula*.

Con nuestra escasa experimentación no podemos abordar aún el problema de la interconvertibilidad de las fases. Hemos apreciado la transformación de "R" en "M" y cierta regresión transitoria de "R" a una forma intermedia entre "S" y "R".

De nuestras experiencias y de las de NADSON & PHILIPPOV se deduce que los caracteres mucoide, liso o rugoso de los cultivos no pueden ser tenidos en cuenta para distinguir especies o variedades en el género *Rhodotorula* y tampoco la pigmentación más o menos acentuada de los cultivos, pues es éste un carácter también sujeto a variación.

II. — Descripción de las especies estudiadas.

1. — RHODOTORULA MUCILAGINOSA (Jørgensen) Harrison.

Teniendo en cuenta los fenómenos de variación, hemos identificado a esta especie seis cepas aisladas de lesiones de tres enfermos y dos cepas aisladas de uvas maduras y deterioradas.

Cepas estudiadas.

Número 652 Aislada de un caso de onixis, con levaduras visibles por examen directo; fase "R" y transformación a "M".

- Número 651 Aislada del caso anterior; fase "S".
 Número 719 Aislada de perionixis por estreptococos; fase "M".
 Número 720 Aislada del caso anterior; fase "R".
 Número 669 Aislada de una eezema marginada por *Epidermophyton*; fase "M".
 Número 670 Aislada del caso anterior; fase "S".
 Números 858 y 858 B Aisladas de uvas; fase "M".

De las lesiones humanas se aisló abundantes colonias de levaduras rojas. En el primer caso citado se aisló, además de las levaduras rojas, dos colonias de una levadura blanca que fué indentificada a *Candida Flareri*.

Caracteres macroscópicos en la fase mucóide.

Gelosa peptonada glucosada. Cultivo liso, brillante, de color rojo escarlata (*miniatus*, 15 Sacc.), inconsistente, mucilaginoso, resbalando hacia el fondo del tubo. Bordes regulares y transparentes. En una ocasión observamos filamentización hacia la profundidad en un viejo cultivo de 90 días. La colonia gigante es completamente lisa.

Agua peptonada glucosada. Anillo rojo, algo adherente al vidrio. Velo mucóide generalmente. Depósito mucilaginoso que al mover el tubo se desintegra en hilos mucóides.

Medio con alcohol etílico. Ni velo, ni anillo. Casi no crece. Agregando tiamina no se modificó el resultado.

Mosto. Velo y anillo mucóide, depósito mucilaginoso.

Caracteres macroscópicos en la fase lisa o "S"

Gelosa peptonada glucosada. Cultivo rojo escarlata, mate o con poco brillo, inconsistente; superficie con finas estrías en los bordes y perpendiculares a ellos volviéndolos ondulados; en la parte central se observan pequeños mamelones puntiformes que producen un aspecto mate. Con estos cultivos se obtienen suspensiones homogéneas en solución fisiológica. La colonia gigante presenta escaso número de pliegues poco elevados.

Agua peptonada glucosada, medio con alcohol etílico y mosto. El mismo aspecto que la fase mucóide.

Caracteres macroscópicos de la fase rugosa o "R"

Gelosa peptonada glucosada. Cultivo muy plegado, con pliegues elevados y muy marcados; mates, poco consistentes, borde irregular. Color rojo escarlata. Además de los pliegues levantados, se puede ver en ciertas zonas de los bordes, finas estrías parecidas a las de la fase lisa. Con este tipo de cultivo se obtienen suspensiones heterogéneas, grumosas, en agua destilada y solución fisiológica.

Agua peptonada glucosada y mosto. Se aprecian claras diferencias con las fases mucoides y lisas. El depósito es grumoso, heterogéneo; observándose, luego de agitar el tubo, grumos en un líquido claro.

Medio con alcohol etílico al tres por ciento. Escasísimo desarrollo.

El aspecto macroscópico de variantes hipopigmentadas es el mismo, salvo el color.

Caracteres microscópicos

Las tres fases presentan un aspecto microscópico parecido en cultivos en mosto. Células redondas, de 2 a 6 μ y rara vez de dimensiones mayores, hasta 8 y aún 9 μ . Se ve también células ovales de 4 a 5,6 μ por 2,5 a 4 μ .

En agar SABOURAUD se puede ver en los cultivos viejos algunas raras células alargadas formando filamentos o tubos de 20 a 30 μ de largo por 2,3 a 2,6 de ancho; estos filamentos suelen presentar algunas ramificaciones.

Una cepa produjo filamentización hacia la profundidad. Se trataba de pseudofilamentos ramificados, constituidos por largas células de 40 y aún 50 μ . El aspecto de la filamentización es arboriforme, sin verticilos de blastosporos. Los pseudofilamentos suelen presentar vacuolas en su interior y terminar en hileras de blastosporos estalagmoides.

En cultivo en lámina no obtuvimos filamentización ni aún en atmósfera rica en anhídrido carbónico.

Las células de *Rh. mucilaginosae* poseen una pared de doble contorno que no se colorea con los colorantes habituales. Esta membrana se ve tanto en las células de la forma "M", como de la "S" y la "R". En la fase mucoides, las células o grupos de células se hallan englobados en una sustancia mucoides muy hidrópica y poco consistente.

Propiedades biológicas

Temperatura de crecimiento. Crece bien entre 20° y 30°. A 37° el crecimiento es lento.

Zimograma. Negativo.

Auxanograma con hidratos de carbono. Positivo con glucosa, sacarosa y maltosa. Con galactosa es positivo, pero mucho menos intenso que con los otros azúcares, y con rafinosa la zona de crecimiento es pequeña. Con lactosa es negativo.

En medio líquido de LAURENT (7) obtuvimos resultados similares sólo cuando agregamos tiamina al medio (1 milimicromol por cada 5 cc. de medio). Agregando el indicador de ANDRADE pudimos apreciar la acidificación del medio. Aumento del crecimiento y acidificación fueron observados con glucosa, maltosa, sacarosa, galactosa y rafinosa; resultados negativos se obtuvieron con lactosa.

Auxanograma con compuestos nitrogenados. Utilizando el medio habitual, recomendado por LODDER, no logramos resultados legibles ni aún con el agregado de tiamina. Agregamos en otras pruebas células muertas de la misma especie (cepa 719). Se trata de células lavadas, de cultivos en gelosa SABOURAUD, muertos por calentamiento a 90°. En este medio logramos buenos auxanogramas con las siguientes características.: positivo con urea, peptona, sulfato de amonio y asparagina, negativo con nitrato de potasio. Esta experiencia demostraría que la especie es carente para varios factores de crecimiento proporcionados por la peptona del medio de SABOURAUD (vitaminas y ácidos aminados probablemente); los cultivos muertos, que agregamos al medio de LODDER, habrían extraído de la peptona esos factores o los habrían sintetizado con componentes de la peptona.

También probamos la acción de los compuestos nitrogenados colocando el medio de LODDER en tubos (5cc. de medio en cada tubo) y agregando el compuesto a probar en la proporción de uno por ciento y 1 milimicromol de tiamina. Siempre dejamos varios tubos sin fuente de nitrógeno como controles. Los resultados fueron los mismos que con el método auxanográfico. Se practicó una experiencia paralela en el mismo medio, pero sin tiamina y sólo obtuvimos resultado positivo con la peptona. Esta experiencia demuestra también que *Rh. mucilaginosa* es heterotrófica para la tiamina. Según nuestras experiencias (8 & 9), la peptona tiene pequeñas cantidades de tiamina.

Otras propiedades. La acción sobre la gelatina (mosto gelatinado) fué siempre negativa (en dos meses de observación). La acción sobre la leche fué también nula.

Acción patógena experimental.

Negativa para el conejo por vía intravenosa.

Debido a similitudes de las propiedades bioquímicas entre *Rh. dotorula mucilaginosa* y la especie patógena *Torulopsis neoformans* Sanfelice (= *T. histolytica*) creímos interesante probar si tenían la misma acción patógena experimental para la rata.

Para tal efecto inoculamos con cada especie por vía intracerebral cuatro ratas, muriendo las inoculadas con *T. neoformans* entre siete y 21 días, con lesiones características. En cambio, las inoculadas con *Rh. mucilaginosa* sobrevivieron, sacrificadas a los dos meses se comprobó en ellas ausencia de lesiones.

Por otra parte la cápsula mucóide de *Rh. mucilaginoso* en fase "M" es muy hidrópica en comparación con la de *T. neoformans*, a tal extremo que a veces es difícil ponerla en evidencia.

Consideraciones

Por sus características morfológicas y biológicas las cepas que hemos estudiado, según las descripciones de LODDER, pertenecen a la especie *Rhodotorula mucilaginoso*. LODDER admite en esta especie cinco variedades; la variedad tipo y otras cuatro que se distinguirían por el aspecto mucilaginoso liso o plegado de las colonias, por el crecimiento más o menos fácil en medio con alcohol etílico, como sustrato de crecimiento, y por otras características de menor cuantía, como variaciones en la intensidad o tinte del color de los cultivos o la rara forma de algunas células. De todas estas cualidades el aspecto y color de las colonias no tiene valor para la sistemática, según lo hemos visto al tratar las fases "M", "S" y "R" y las mutantes depigmentadas o hipopigmentadas. Las dimensiones de las células varían dentro de límites demasiado estrechos para permitir la distinción de variedades. En cambio, el crecimiento en medio con alcohol etílico marcaría diferencias entre algunas cepas, pero, para establecer claramente tales diferencias, habría sido necesario comparar el crecimiento de cada cepa en medio con alcohol etílico y en el mismo medio sin éste. Al efectuar esta experiencia debe tenerse presente también las carencias en tiamina de muchas especies de levaduras rojas. A veces la falta de crecimiento puede ser imputable, no a la falta de utilización del alcohol como fuente de carbono, sino a la carencia de la cepa en factores de crecimiento, que tampoco encuentra en el medio de cultivo. Nosotros hemos usado el medio de LODDER con tiamina (1 milimicromol por 5cc. de medio), comparamos el resultado del crecimiento con alcohol y sin él, llegando a la conclusión que el alcohol etílico no favorece el desarrollo. LODDER señala buen crecimiento de algunas cepas en medio con alcohol etílico y escaso crecimiento de otras; pero no se establece una comparación entre el desarrollo en medio con alcohol y medio sin alcohol. Es probable que ese estudio comparativo, que no estamos en condiciones de realizar, demuestre la existencia de variedades. Según LODDER, *Rh. mucilaginoso*, var. *sanguinea*, crece poco en medio con alcohol, pero hace caer en sinonimia con esta variedad a especies que crecen bien en medio con alcohol, como *Eurotulopsis dubia* Cif. & Red. y *Mycotorula pulmonanis* Cif. & Red. Por estas razones no consideramos posible todavía distinguir con seguridad variedades dentro de la especie.

Un hecho curioso es que en un caso hallamos aislado, junto con *Rh. mucilaginoso* (cientos de colonias) a la única cepa que po-

seemos y la segunda cepa conocida de *Candida Flareri*. Hacemos notar que el tipo de cultivo en gelosa de SABOURAUD, de nuestra cepa, es idéntico al de la forma lisa de *Rh. mucilaginosa*, excepto en el color blanco crema. El auxanograma con azúcares es igual hasta en detalles tales como el poco crecimiento con galactosa. Además, la cepa presenta carencia en tiamina y produce el mismo tipo de filimentación que *Rh. mucilaginosa*. *Candida Flareri*, según la descripción de LANGERON & GUERRA (10), rara vez produce filimentación y en las figuras observamos un tipo de filamentos semejante al que observamos en nuestras cepas de *Rh. mucilaginosa* y *C. Flareri*. Nuestra cepa de *C. Flareri* no utiliza la urea como corresponde a la especie, en el medio sintético habitual recomendado por LODDER, pero si a este medio se agrega células muertas de *Rh. mucilaginosa*, en cultivo en gelosa de SABOURAUD, utiliza la urea. Esto mismo sucede también con *Rh. mucilaginosa*, lo cual indicaría carencias similares. Todos estos hechos nos hacen pensar que *C. Flareri* sería una variante depigmentada de *Rh. mucilaginosa* en fase "S".

Las carencias en *Rh. mucilaginosa*, ya habían sido estudiadas. SCHOPFFER, en 1938 (citado por ROBBINS & KAVANAGH, 11), habría observado que *Rh. mucilaginosa* no crece en soluciones de glucosa, sales minerales y asparagina, pero que el agregado de tiamina o de uno de sus intermediarios, la piramidina, permite el crecimiento; el tiazol no tendría acción. Igual tipo de carencia señalan ROBBINS & KAVANAGH (12), en *Torula sanguinea* Schimon, que LODDER considera una variedad de *Rh. mucilaginosa*.

En cuanto al habitat y acción patógena de *Rh. mucilaginosa* poco se conoce. Ha sido hallada, según datos de la monografía de LODDER, en el aire por JÖRGENSEN, SAITO, CIFERRI, & REDAELLI; en el agua por SCHIMON y por KUFFERATH (*T. aelotiana*) y en la cerveza por SCHIMON. Nosotros hemos hallado la especie en uvas maduras en desintegración.

Del hombre, *Rh. mucilaginosa* ha sido aislada en múltiples ocasiones y es la especie del género que mayor interés médico inspira. En realidad, no se poseen datos suficientes para considerarla como patógena. CIFERRI & REDAELLI aislaron de un absceso pulmonar *Mycotorula pulmonalis*, en 1925. LODDER identifica esa especie a *Rh. mucilaginosa*. ASHFORD & CIFERRI aislaron de las heces *Torulopsis nitritophila*, que LODDER considera sinónimo de la especie que tratamos. SARTORY, SARTORY, HUFSCHEMITT & MEYER (13) aislaron, de lesiones parecidas a una tiña supurada, una levadura roja que llamaron *Cryptococcus corallinus* y que poseería acción fermentativa; no cremos demostrada la acción patógena por los estudios de SARTORY y sus colaboradores; LODDER no comprobó fermentación y considera la especie sinónimo de *Rh. mucilaginosa*. SARTORY, SARTORY & MEYER (14) describieron una levadura rosada aislada de casos de alopecia epidémica, sin atribuirle

acción patógena; denominan la especie *Cryptococcus radiatus* (según LODDER, igual a *Rh. mucilaginosus*). En 1927, CASTELLANI aisló una levadura roja de los esputos de un sujeto con bronquitis (15) y denominó la especie *Cryptococcus pararoseus* (*Rh. mucilaginosus*, según LODDER). Igualmente, LODDER considera como *Rh. mucilaginosus* a *Cryptococcus rubrorugosus*, que CASTELLANI aisló de la piel humana.

2. — RHODOTORULA GLUTINIS (Fresenius) Harrison

Cepas estudiadas

Estudiamos una cepa de esta especie (N.º 757). Fué aislada por G. B. Schouten; en la Asunción, Paraguay, en una secreción vaginal.

Caracteres macroscópicos.

Gelosa peptonada glucosada. Cultivo liso, brillante, blando, mucilaginoso, de color rojo escarlata cuando joven (*miniatus*, 15 Sacc.). Bordes enteros.

Agua peptonada glucosada. Anillo rojizo. Sedimento mucilaginoso. Luego de 15 días, velo mucoso.

Medio con tres por ciento de alcohol etílico. Velo liso, ligeramente rosado; abundante depósito. En el mismo medio, pero sin alcohol, crece muy poco. El agregado de tiamina no influye sobre el crecimiento.

Caracteres biológicos.

Temperatura de crecimiento. Crece bien entre 15° y 25° c., pero no crece a 37°.

Zimograma. Negativo.

Auxanograma con azúcares. Positivo con glucosa, maltosa, sacarosa, galactosa y rafinosa. Negativo con lactosa.

En medio líquido de LAURENT con indicador de ANDRADE, se obtuvo aumento del crecimiento y acidificación con los azúcares que proporcionaron un auxanograma positivo. Se comprobó también que la tiamina no aumenta el crecimiento, el cual es bueno sin tiamina.

Auxanograma con compuestos azoados. Positivos con urea, nitrato de potasio, asparagina, sulfato de amonio y peptona.

La urea, el sulfato de amonio y la asparagina tienen influencia sobre el crecimiento a gran distancia de donde se colocó el cristal y si se utiliza pequeñas cajas de Petri, el crecimiento parece uniforme por interferencia en las zonas de influencia.

Se utilizó también la siembra en el mismo medio en tubos, con tiamina y sin ella y con uno por ciento de la sustancia que se deseaba probar. Los resultados fueron similares a los del método auxanográfico. La tiamina no es necesaria para el buen desarrollo.

Acción patógena experimental.

Negativa para el conejo por vía intravenosa.

Variaciones.

No observadas.

Consideraciones.

LODDER en su monografía distingue cinco variedades:

Rh. glutinis (Fres.) Harr., células de 3^a a 4,5 por 5 a 7 μ , cultivos de color rojo con tinte anaranjado.

Rh. glutinis var. *Saitoi* (Cif. y Red.) Lodder. Células más redondas: 3,5 a 5 por 4 a 6,5 μ .

Rh. glutinis var. *rubescens* (Saito) Lodder. Células más bien redondas, 4 por 4 a 5,6 μ . Color pálido (naranja con tintes rojizos).

Rh. glutinis var. *rufula*. (Saito) Lodder. Se caracterizaría por su palidez.

Rh. glutinis var. *infirmo-miniata* (Okunuki) Lodder. Células más bien alargadas (3 a 4,5 por 5,5 a 8 μ), que no asimilaría la galactosa.

Según las citadas experiencias sobre variación, las diferencias en la intensidad de la coloración no sirven para diferenciar especies ni variedades. Las pequeñas diferencias en el tamaño de las células difícilmente permitirían distinguir las citadas variedades. Admitimos la variedad *infirmo miniata*, por no utilizar la galactosa, pero no creemos que esta diferencia justifique la distinción de una especie, por que las rodotorulas que utilizan este azúcar producen auxanograma débilmente positivo y a veces poco claro. Sus células son alargadas.

Según SCHOPFER, *Rh. glutinis* sería autotrófica para la tiamina (11), lo cual coincide con nuestras observaciones en la cepa Schouten. En cambio, *Rh. glutinis* var. *infirmo miniata* crecería poco aún con el agregado de tiamina.

Creemos que en esta especie debe considerarse la cepa llamada *Rhodotorula bronchialis* (Cif. y Red.), que sólo se distinguiría por sus cultivos no mucilaginosos. Por la descripción de LODDER, se trataría de *Rh. glutinis* en fase "S" mientras que *Rh. glutinis* se halla normalmente en fase "M".

Habitat y acción patógena.

Según LODDER, FRESenius habría hallado la especie en engrudo de almidón. SCHROETER en patatas. PRINGSHEIM & BILEWSKY, SAITO, CIFERRI & REDAELLI y OKUNUKI la habrían aislado del aire. SAITO en el agua. MRAK & Mc CLUNG (16) la hallaron en uvas.

La acción patógena la creemos nula o muy dudosa, pues *Rh.*

glutinis no crece a 37°. No se puede descartar, sin embargo, la probable existencia de razas termófilas. Se cita su aislamiento de lesiones, pero las cepas citadas generalmente han sido aisladas y estudiadas cuando los actuales métodos de identificación no habían sido aún desarrollados y no sabemos con exactitud si se trataba en realidad de *Rh. glutinis*. Nosotros no hemos hallado *Rh. glutinis* sobre el hombre, en cambio, hallamos con cierta frecuencia *Rh. mucilaginoso*. Si se admite la identidad de *Rh. bronchialis* con *Rh. glutinis*, la especie habría sido aislada de esputos. DODGE considera a *Rh. glutinis* no como germen patógeno sino como contaminante.

3. — RHODOTORULA RUBRA (Demme) Lodder

Cepas estudiadas

Se estudió una cepa obtenida de la Facultad de Medicina, de París con el nombre *Cryptococcus Ludwigi* Anderson. Esta es la cepa Anderson, identificada por LODDER con *Rh. rubra* var. *longa*.

Caracteres macroscópicos.

Gelosa peptonada glucosada. Cultivos lisos, blandos, color rojo escarlata (*miniatas*), mucilaginosos, borde entero y algo translúcido en la parte baja y algo irregular en la parte alta del cultivo.

Aqua peptonada glucosada. Anillo y depósito.

Medio con alcohol etílico. Crece bien.

Caracteres microscópicos.

Células alargadas, raras células redondeadas u ovals, salvo pequeños brotos. Muchos brotos tienen aspecto estalagmoide. Las células miden de 2 a 4 por 3 a 7 μ pudiendo llegar a 10 μ y rara vez a 12. Las células poseen cápsula mucóide hidrópica.

Caracteres biológicos.

Temperatura óptima. No crece a 37°, pero crece bien entre 20° y 30°.

Zimograma. Negativo.

Auxanograma con azúcares. Positivo con glucosa, maltosa, sacarosa, galactosa y rafinosa. Negativo con lactosa.

Auxanograma con compuestos nitrogenados. Positivo con sulfato de amonio, urea, asparagina y peptona. Negativo con nitrato de potasio.

Otras propiedades. No licúa la gelatina. No tiene acción sobre la leche.

No se estudiaron las variaciones ni la acción patógena experimental.

Consideraciones.

LODDER fundamenta la diagnosis de la especie en las células alargadas. Por los otros caracteres se parece a *Rh. mucilaginosa*. LODDER distingue las variedades *longa* y *curvata* por las células más largas (7 a 11 y 5 a 11 μ de largo respectivamente, en lugar de 6 a 9,5). La variedad *curvata* se distinguiría por la incurvación de gran número de células.

Nosotros hemos estudiado la misma cepa que LODDER denominó *Rh. rubra var. longa* y hallamos sin dificultad células incurvadas, por lo cual la variedad *curvata* se distinguiría sólo por una cantidad relativamente mayor de células incurvadas, lo que no merecía ser considerado más que como un carácter individual. Además, hemos comprobado que la mayor parte de las células miden 5 a 7 μ , alcanzando muchas a 9 y 10 μ y muy pocas a 12.

No creemos pues, que las variedades *longa* y *curvata* puedan ser mantenidas. Estas variedades no figuran como con aspecto mucilaginoso, pero ANDERSON describió su cepa como mucilaginosa y creemos probable que cuando LODDER la estudió, habría cambiado de fase, volviéndose "S".

Habitat y acción patógena

DEMME aisló su especie de la leche y del queso, así como de materias fecales de niños que se habían alimentado con esa leche y sufrían de enteritis.

La especie fué aislada del aire por SAITO (= *Torula corallina* Saito = *Rh. rubra* var. *curvata* Lodder) y por LUDWIG (= *Cryptococcus Ludwigi* = *Rh. rubra* var. *longa* Lodder). DODGE cita la observación de BAGNACCI, en una glositis de un niño, de la cual aisló la especie; pero dado los conocimientos actuales, no se puede afirmar que se trata de *Rh. rubra* sino solamente de una levadura roja.

4. — RHODOTORULA MINUTA (Saito) Harrison

Hemos estudiado una cepa (N.º 286) obtenida del M. Langeron, de la Facultad de Medicina de París, con la denominación de *Toropsis minuta*. Esta especie fué aislada del aire en Tokio, por SAITO.

Caracteres macroscópicos

Gelosa peptonada glucosada. Cultivos lisos, blandos, brillantes, algo mucilaginosos, de color rojo (*minutus*. 15 Sacc.). Borde entero.

Agua peptonada glucosada. Depósito mucilaginoso y a veces anillo.

Medio con alcohol etílico. Depósito abundante.

Caracteres microscópicos

Células redondeadas u ovals de 2 a 4 por 3 a 6 μ . Aisladas, de a dos, o en cortas cadenas.

Propiedades biológicas

Temperatura de crecimiento. Crece bien entre 20° y 30°. No crece a 37°.

Zimograma. Negativo.

Auxanograma con azúcares. Positivo franco con glucosa, sacarosa, galactosa y rafinosa. Con maltosa el auxanograma, aunque positivo, es mucho menos intenso que con los otros azúcares. Negativo con lactosa.

Auxanograma con compuestos nitrogenados. Positivo con urea, asparagina, sulfato de amonio y peptona. Negativo con nitrato de potasio.

Otras propiedades. No licúa la gelatina. No tiene acción sobre la leche.

Consideraciones

LODDER admite la especie por el auxanograma negativo con maltosa. Según nuestra experiencia es positivo aunque menos intenso que lo habitual. En consecuencia, creemos que *Rh. minuta* es sinónimo de *Rh. mucilaginosa*.

Sin embargo, RUIZ (17) creó recientemente la variedad *coralloides* de *Rh. minuta*, basado en el color y aspecto de la colonia gigante. Esas características son de la categoría que señalamos como inestables. En cuanto al hallazgo de una nueva cepa de *Rh. minuta*, lo consideramos como un hecho de interés.

III. — Consideraciones sobre otras especies del género

No poseyendo cultivos de las otras especies del género, estamos obligados a limitarnos a hacer la crítica de las especies de LODDER a la luz de los conocimientos adquiridos sobre disociación. Elló es posible debido a las correctas descripciones de LODDER.

1. — RHODOTORULA AURANTIACA (Saito) Lodder y RH. LONGISSIMA Lodder

Estas dos especies poseen células de 3 a 4,5 por 9 a 14 μ la primera y de 3,5 a 4,5 por 8,5 a 15 μ la segunda. Las diferencias son muy pequeñas, inapreciables casi. Observando los dibujos de LODDER no se aprecian diferencias en la forma. Las propiedades bioquímicas de ambas especies son idénticas. LODDER en su tabla dicotómica coloca juntas ambas especies y señala que *Rh. aurantiaca* es de color naranja y *Rh. longissima* de color rojo; tales diferencias no servirían para distinguir especies según las experiencias de disociación. *Rh. aurantiaca* produciría cultivos mucilaginosos y *Rh. longissima* sería menos mucilaginosa. Creemos que *Rh. longissima* debe caer en sinonimia con *Rh. aurantiaca*. Ambas cepas fueron aisladas en el Japón, *Rh. aurantiaca*, del aire por Saito y *Rh. longissima* de la tierra por Okunuki. Por la forma de sus células se parecen a *Rh. rubra* formando un grupo morfológico con esta especie.

2. — RHODOTORULA FLAVA (Saito) Lodder y RH. AUREA (Saito) Lodder

Las células de *Rh. flava* medirían 3,5 a 5 por 5 a 7 μ y las de *Rh. aurea* 3 a 4,5 por 3,5 a 7 μ . Los cultivos de *Rh. flava* son blandos, mates, arrugados con pliegues radiados y los de *Rh. aurea* blandos, húmedo-brillantes, lisos y algo mucilaginosos. El color es igual en las dos especies: amarillo anaranjado oscuro. Ambas cepas tienen auxanograma positivo con lactosa. El aspecto del cultivo constituye el carácter diferencial y no tiene valor según las experiencias de disociación. SCHOPFER (citado por ROBBINS & KAVANAGH, 11), señaló que *Rh. aurea* crece bien en medio con asparagina, sales minerales y glucosa, mientras que *Rh. flava* crece mal, salvo que se agregue tiamina o pirimidina. LODDER aprecia que la primer especie crece bien en medio con alcohol y la segunda no crece, ello podría ser imputado a su carencia en tiamina. Es esta la única diferencia entre ambas cepas y no se le atribuye valor específico. Por eso consideramos a *Rh. flava* como sinónimo de *Rh. aurea*. Ambas cepas fueron aisladas del aire en Tokio.

3. — RHODOTORULA SUGANII (Okunuki) Lodder y RH. COLOSTRI (Castelli) Lodder

Estas dos cepas, por sus grandes células y por el auxanograma positivo con nitrato, se aproximan a *Rh. aurantiaca*, pero las células no son tan largas y serían más anchas. Las células de *Rh. Suganii* en mosto, miden 3,5 a 5,5 por 7 a 11 μ y las de *Rh. colostri* 4,5 a 6 por 7 a 10. En agar-mosto las dimensiones de las células de esta

última especie variarían entre límites más amplios: 2,5 a 4,5 por 6,5 a 12 μ . No se aprecian pues, diferencias notables entre las dimensiones y forma de las células de las dos especies.

Rh. colostri, según nuestra opinión, sería la fase lisa o rugosa de *Rh. Suganii*, que está en fase normal o mucóide. La primera produce cultivos blandos, brillantes aunque arrugados y con borde no entero y la segunda cultivos lisos, brillantes, mucilaginosos con borde entero. *Rh. Suganii* produce cultivos de color anaranjado-rojizo y *Rh. colostri* cultivos rojos con algún tinte violeta. Hemos observado tonos de color más subido en la fase lisa que en las fases mucóide y rugosa. Otras diferencias se señalan, tales como la producción de velo en *Rh. colostri*, lo que es más frecuente en las formas rugosas. Creemos que, de acuerdo con los nuevos conocimientos sobre disociación, *Rh. colostri* debe caer en sinonimia con *Rh. Suganii*. Como en el caso anterior, habría una diferencia, ella es el poco crecimiento en alcohol etílico (en medio sintético) de la cepa en fase "R" o sea *Rh. colostri*.

Rh. Suganii habría sido aislada del aire en Tokio y su sinónimo del calostro.

4. — RHODOTORULA SANNIET (Cif. & Red.) Lodder

Se trata de una levadura que, como *Rh. Suganii* produce gruesas, anchas células, y cuya longitud es también grande (4,5 a 5,5 por 5,5 a 8,5 μ y aún hasta 9 μ en agar.). Se diferencia biológicamente de *Rh. Suganii* por el auxanograma negativo con los nitratos. Su color es rojo naranja. El cultivo es blando, brillante, con pequeñas excrecencias y borde no entero. Estos caracteres revelan que la especie no ha sido descrita en la fase normal o mucóide. El grueso depósito en mosto y la irregularidad del cultivo sugieren que ha sido descrita en fase rugosa.

5. — RHODOTORULA PALLIDA Lodder

Fué descrita por LODDER en un cultivo que le enviara Ciferri como *Mycotorula muris* (Cif. & Red.), aislado de una blastomycosis espontánea de una rata blanca. CIFERRI & REDAELLI (18) describieron un hongo con pseudomicelio muy desarrollado y verticilos de blastosporos, muy bien figurados en la figura 8 de la lámina VI de su publicación. LODDER no halló tales elementos y cree que la cepa que llegó a sus manos es una contaminación y no la descrita por CIFERRI & REDAELLI.

Sus pequeñas células (3 a 4 por 4 a 6,5 μ) y la no asimilación de los nitratos, la aproximan a *Rh. mucilaginoso*; pero el auxa-

nograma negativo con sacarosa y maltosa la distinguirían de esta especie. Los cultivos son amarillos con tinte rosa, blandos, brillantes y lisos. Habría sido descrita la especie en la fase "S".

IV. — Consideraciones sobre el género *Rhodotorula* (Harrison) emmend. Lodder

No consideramos el carácter mucóide, liso o rugoso y la intensidad de la coloración de los cultivos como elementos útiles para distinguir especies. La diferenciación de las principales especies se basa, en consecuencia, sólo en la morfología de las células y en la utilización o no utilización de los nitratos como fuente única de nitrógeno. Estos caracteres servirían para distinguir seis de las ocho especies que admitimos y que poseen un auxanograma con hidratos de carbono similar, positivo con glucosa, maltosa y sacarosa; negativo con lactosa; con galactosa el resultado es generalmente positivo débil o dudoso. Las otras dos especies son *Rh. aurea*, con auxanograma positivo con lactosa y *Rh. pallida*, con auxanograma negativo con sacarosa, maltosa y lactosa.

Las seis especies con auxanogramas de los azúcares idénticos pueden agruparse en tres grupos de dos especies cada uno.

El grupo I comprende especies con células redondas u ovals chicas, cuyo ancho varía entre 2 y 4 μ y su largo entre 3 y 6. Raras células sobrepasan esas dimensiones.

El grupo II comprende especies con células alargadas y angostas (2 a 3 por 4 a 10 μ en general). Las células son muy angostas y las células de 5 a 7 μ muy abundantes, siendo aún comunes las de 10 μ .

El grupo III comprende especies con células no sólo largas sino también anchas (3,5 a 6 por 6 a 10 μ y aún 12 μ).

Cada grupo comprende una especie que asimila los nitratos y otra que no los asimila.

En el grupo I distinguimos: *Rh. glutinans* (nitrato positiva) y *Rh. mucilaginososa* (nitrato negativa).

En el grupo II: *Rh. aurantiaca* (nitrato positiva) y *Rh. rubra* (nitrato negativa).

En el grupo III: *Rh. Suganii* (nitrato positiva) y *Rh. sanniei* (nitrato negativa).

En la mayor parte de las especies se conoce la fase mucóide o "M" con cápsula mucilaginosa hidrópica, que consideramos la forma normal en el género y además existen variantes que pueden ser catalogadas como rugosas o "R" y creemos que se distingue también una forma lisa o "S" no mucóide. Existirían formas intermedias entre "M" y "S" y entre "S" y "R". Además, existen variantes hipopigmentadas que hemos observado y han sido descritas también

variantes depigmentadas obtenidas por disociación por medio de los rayos X (NADSON & PHILIPPOV).

Estas razas o variantes depigmentadas las creemos muy vinculadas a especies del género *Torulopsis* Berlese. *Candida Flareri* (Redaelli & Ciferri) sería también una variante depigmentada de *Rh. mucilaginoso* en fase "S".

En medio con alcohol etílico se apreciarían diferencias en el crecimiento que, en las condiciones en que hasta el presente se ha trabajado, no pueden ser atribuidas sin mayor experimentación a que el alcohol etílico sea utilizado o no como fuente de carbono, porque se usó para experimentar un medio carente en tiamina y otros factores de crecimiento. Muchas cepas de *Rhodotorula* manifiestan, en efecto, carencias. Se trata de incapacidad para sintetizar el núcleo pirimidina de la tiamina, pues el agregado de tiamina o de pirimidina o de tiazol más pirimidina acrecientan su desarrollo, siendo, en cambio, negativa la acción del tiazol. No podemos considerar las carencias como caracteres específicos por falta de estudios comparativos, pero es muy probable que tales caracteres tengan valor en sistemática.

En cuanto a la acción patógena no se poseen datos seguros. Sin embargo, creemos que *Rh. mucilaginoso* puede vivir sobre el hombre.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) LODDER, J. — Die anaskosporogenen Hefen. Amsterdam. 1934.
- (2) DODGE, C. W. — Medical Mycology. The C. V. Mosby Co. St. Louis. 1935.
- (3) BENHAM, R. W. — Cryptococci. Their Identification by Morphology and by Serology. Jrl. Inf. Dis., 57:255-274. 1935.
- (4) NADSON, C. & PHILIPPOV, G. — De la formation des nouvelles races stables chez les champignons inférieurs sous l'influence des rayons. C. R. Ac. Sc., Paris, 186:1566-1568. 1928.
- (5) NADSON, C. A. — Changements des caractères héréditaires provoqués expérimentalement et la création de nouvelles races stables chez les levures. Hermann et Cie Paris. 1937.
- (6) PUNKARI, S. & HENRICI, A. T. — A Study of Variation in chromogenic asporogenous Yeasts. Jrl. Baet., 26:125-138. 1933.
- (7) LAURENT, E. — Nutrition hydrocarbonée et formation de glycogène chez la levure de bière. Ann. Inst. Pasteur, 3:113-125. 1889.
- (8) MACKINNON, J. E. — The Effect of Actinomyces albus and of Thiamin on the Growth of Trichophyton discoides. Bull. Torrey Bot. Club, 69:21-26. 1942.
- (9) ROBBINS, W. S., MACKINNON, J. E. & MA, R. — Vitamin deficiencies of Trichophyton discoides. Bull. Torrey Bot. Club, 69:509-521. 1942.
- (10) LANGERON, M. & GUERRA, P. — Nouvelles recherches de zymologie medicale. Ann. Paras. hum. et comp., 16:36-84, 162-179, 430-476 & 481-525.

- (11) ROBBINS, W. & KAVANAGH, V. — Vitamin Deficiencies of the Filamentous Fungi. *Bot. Rev.*, 8:411-471. 1942.
- (12) ROBBINS, W. J. & KAVANAGH, F. — Intermediates of Vitamin B1 and the Growth of *Torula*. *Plant Phys.*, 13:611-619. 1938.
- (13) SARTORY, A., SARTORY, R., HUFSCHEMITT, G. & MEYER, J. — Etude d'un cryptococcus nouveau (*Cryptococcus corallinus*) isolé de lésions rappelant les kériions trichophytiques. *C. R. Soc. Biol., Paris*, 104:1316-1318. 1930.
- (14) SARTORY, A., SARTORY, R. & MEYER, J. — Etude botanique et biologique d'une nouvelle levure rose (*Cryptococcus radiatus* n. sp.). *C. R. Soc. biol., Paris*, 106:597-598. 1931.
- (15) CASTELLANI, A. — Considerations on the Fungi found in Blastomycosis. *Am. Jrl. Trop. Med.*, 8:381-388. 1928.
- (16) MRAK, E. M. & Mc CLUNG, L. S. — Yeasts occurring on grapes and in grape products in California. *Jrl. Bact.*, 40:395-407. 1940
- (17) RUIZ, M. O. — Estudio de una nueva variedad de *Rhodotorula minuta* (Saito) Harrison aislada de las escamas de la piel humana. *An. Inst. Biol., México*, 14:121-125. 1943.
- (18) CIFERRI, R. & REDAELLI, P. — Studies on the Torulopsidaceae. *Ann. Myc.*, 27:243-295. 1929.

EXPLICACIÓN DE LA LÁMINA I

Rhodotorula mucilaginosa (Jørgensen)

Desarrollada en gelosa peptonada glucosada

Figura 1. — Fase mucóide o "M" (colonia superior) y fase lisa o "S" (colonia inferior), creciendo en el mismo frasco y, por lo tanto, en idénticas condiciones de ambiente. El recipiente fué colocado inclinado ligeramente durante el desarrollo del cultivo, de modo que la superior se ha deslizado, debido a su consistencia mucóide, hasta tocar a la inferior. Esta última, en cambio, permanece circular. La superior corresponde a la cepa 652 y la inferior a la 651.

Figura 2. — Cepa en fase mucóide (arriba) y en fase lisa (abajo). Obsérvese el brillo de la superior.

Figura 3. — Cepa en fase mucóide (arriba) y en fase rugosa o "R" (abajo). La cepa en fase "R" tiene dos sectores lisos, de los que se obtuvieron cultivos que rápidamente volvieron a dar cultivos rugosos. La colonia superior corresponde a la cepa 719 y la inferior a la 720.

