

Sobre el género *Nectaromyces*

A propósito de una nueva especie "*Nectaromyces rattus*"

por P. Negroni y C. A. N. Daglio

En el mes de agosto del año pasado (1945) recibimos de la Sección Peste de este Instituto el bazo de una rata con esplenomegalia, para su estudio micológico.

Debemos aclarar que desde hace un par de años hemos emprendido dicho estudio con el objeto de revelar la existencia de ratas infectadas espontáneamente con *Histoplasma capsulatum*, hongo que fué señalado por uno de nosotros (1) por primera vez en la América del Sur como productor de histoplasmosis humana (retículo histiocitosis generalizada). Se ha demostrado que el perro y la rata, pueden también, infectarse espontáneamente.

Pues bien, fué sembrado el material mencionado, previamente triturado y tratado por una solución estéril de ácido cítrico al 20 %, durante 24 hs., que obtuvimos el desarrollo de un hongo levaduriforme, cuyo estudio micológico reveló tratarse de un hongo vecino del género *Cándida* y que nosotros clasificamos como una especie nueva del género *Nectaromyces*.

CARACTERES MACRO-MORFOLÓGICOS

Colonia gigante en mosto gelatinado: Al cabo de un mes de incubación a 20-22°C., la colonia es puntiforme, saliente, húmeda y brillante.

Agar-mosto de cerveza en estría: El desarrollo es húmedo, brillante y de consistencia cremosa. Su superficie es ligeramente granulosa y de color blanco. Con el material extraído de este cultivo, se obtiene una suspensión homogénea en el agua o la solución fisiológica.

En *zanahoria* el desarrollo presenta, aproximadamente, los mismos caracteres.

Mosto de cerveza (líquido): Se obtiene la formación de una película ténue, un anillo incompleto y sedimento.

Presentado en la reunión de comunicaciones del 13 de agosto de 1946.

CARACTERES MICRO-MORFOLÓGICOS

El examen microscópico del material extraído de un cultivo en agar-mosto de una semana de incubación a 29°C. permite apreciar la existencia de los restos de unseudomicelio filamentoso, con tendencia a formar verdadero micelio cilíndrico ramificado de 2,34 a 3,27 μ de diámetro, cuyas ramas terminan en cabezuelas con impresiones rugosas sobre las cuales se insertan los blastosporos.

Los blastosporos son globulosos, ovoides o cilíndricos, predominando los primeros y cuyas dimensiones son las siguientes: 2,34 a 8,19 μ .

Se observa regular cantidad de células durables de 17,5 a 32 μ de diámetro y de células vacías (reducidas a la membrana).

Medio de Gorodkova (una semana a 28°C.): se observan blastosporos con los caracteres ya mencionados y algunos cilíndricos de membrana rugosa en uno de cuyos polos más dilatado, lleva 3 a 4 células sobre impresiones rugosas de la membrana (seudoconidias).

Cultivos en cámara húmeda en agua de miel al 20 %: A las 48 hs. de incubación a 37°C. se observan microcolonias en cuya periferia se destaca la formación de unseudomicelio con tendencia a transformarse en micelio verdadero, produciendo un aparato fructífero semejante al del *Hormodendron*. El esporóforo es ramificado y sus ramas tienden a terminar en cabezuelas separadas del resto por un cuello más estrecho. Estas ramas nacen en número de dos y más, raramente de tres, al mismo nivel.

Las pseudoconidias nacen sucesivamente en la extremidad de las ramas del conidioforo, sobre las cuales se implantan mediante impresiones algo más gruesas de la membrana que recuerdan a los separadores (disjoncteur, en francés) del género *Hormodendron*. Decimos que estas pseudoconidias nacen sucesivamente y no simultáneamente por sus desiguales dimensiones. Además se agrupan formando verticilos, los cuales originan a su vez verticilos secundarios, siempre con implantación rugosa.

Al cuarto día, los verticilos secundarios de pseudoconidias habían originado cadenas no ramificadas, y relativamente largas de pseudoconidas globulosas de 3 a 3,5 μ de diámetro, formadas por brotación en sentido basípeto. El conjunto de la fructificación recuerda, en este momento, al de un *Penicillium* de la serie asimétrica con sus ramas de conidioforo, verticilos de metulae, verticilos de esterigmas y cadenas de conidias. (fig. 2). A 25°C. no se desarrolla aparato fructífero particular y se observa el predominio de la formación delseudomicelio sobre la de blastosporos.

En el agua de papas al 25 por mil (cultivos en cámara húmeda): Los blastosporos germinan al cabo de 19 hs. a 37°C. y a los tres días solamente se observa escasoseudomicelio con tendencia a formar verticilos de pseudoconidias. En el mismo medio de cultivo distribuido en tubos de ensayo, se observa la formación

de unseudomicelio tipo *Cándida*, presentando, en ocasiones, espinas de inserción de los blastosporos. Forma clamidosporos.

Germinación de los blastosporos: En el agua de miel al 20 % (en tubos de ensayo) al cabo de 49 hs. a 20°C. se observa la emisión sucesiva de 1 a 3 brotes por diversos puntos del contorno del blastosporo. Estos brotes se alargan y tienden a formar unseudomicelio particular, pues en los puntos estrangulados, la separación de las células se completa por la formación de un tabique.

Bloque de yeso, medio de Gorodkova y zanahoria: No forma endosporos al cabo de un mes de incubación a 28°C.

CARACTERES FISIOLÓGICOS

Temperatura óptima de desarrollo: en las proximidades de 33°C. (determinación efectuada empleando agar mosto de cerveza).

Zimograma: Negativo.

Auxanograma de los hidratos de carbono: Positivo para la glucosa, galactosa, maltosa, sacarosa y rafinosa. Negativo para la lactosa.

Auxanograma del nitrógeno: Positivo para la peptona y negativo para la urea, asparagina, sulfato de amonio y nitrato de potasio.

Leche: es coagulada y acidificada.

Alcohol etílico: no se desarrolla en el medio sintético con 3 % de alcohol etílico.

Acción patógena experimental para la rata blanca: nula (vía peritoneal).

Acción patógena para el ratón: Inyectando grandes dosis por vía peritoneal se produce la muerte al parecer por acción tóxica, debido a la rapidez con que ocurre (24-48 hs.) y a la escasa multiplicación "in situ".

POSICIÓN SISTEMÁTICA

Los caracteres micológicos de estas cepas nos indujo en un primer momento a clasificarla en el género *Cándida*, vecina de *C. Scotti* Diddens y Lodder, 142. Estos autores en su reciente obra sobre las levaduras (2) no esporuladas, que es a nuestro juicio la más autorizada en la sistemática de este grupo de hongos, reconocen al orden *Torulopsidales* creado para comprender a todos los hongos levaduriformes que no producen endosporos.

Este orden contiene dos familias: 1) *Rhodotorulaceae* Lodder, 1934 cuyas células contienen pigmento carotinoide, y 2) *Torulopsidaceae* Ciferri, 1925: sin pigmento carotinoide, la cual se divide en dos tribus:

a) *Torulopsidoideae* Ciferri, 1925: hongos levaduriformes que no formanseudomicelio ni micelio filamentoso verdadero.

b) *Mycotoruloideae* Ciferri y Redaelli, 1925: forman pseudomicelio o micelio filamentoso verdadero. Esta última subfamilia fué modificada por Diddens y Lodder, diciendo que pueden formar, además, de blastoporos, artrosporos y clamidosporos, incluyendo en ella los siguientes géneros: *Bretanomyces*, *Cándida* y *Trichosporon*. El género *Bretanomyces* Kufferath et v. Laer emend. Custers se confunde con *Cándida* Berghout emend. Diddens et Lodder. En efecto, su carácter fundamental parece ser la forma ojival de sus células, carácter que no sería constante ("dfters ogival zugespitzt").

Respecto al género *Trichosporon* Behrend emend. Diddens et Lodder, preferimos conservar el tratamiento en la sistemática dado por V. Puntoni en 1938, quien lo coloca en una familia aparte: *Trichosporaceae* Nannizzi, 1931.

Creemos, en cambio, indispensable desglosar el género *Nectaromyces* de *Cándida* como género propio o, por lo menos, como un subgénero. Es sabido que ambos fueron refundidos por Diddens y Lodder.

El nombre *Nectaromyces* fué utilizado por D. y P. Sydow en 1918 para designar al hongo levaduriforme aislado del néctar pues el género *Anthomyces* estaba ya ocupado entre los *Uredinales*.

Nadson y Krassilnikov (3) hicieron un estudio detallado del hongo en cuestión y llamaron la atención sobre la formación de un aparato conidial verticilado.

Ciferri y Redaelli (4) en 1929 definieron al género *Nectaromyces* en los siguientes términos: "la forma celular más típica es la crucial o, más exactamente, la forma de aeroplano, pero también están presentes las formas usuales de fermento, células gigantes, etc., además tienen un micelio ramificado similar a conidioforos en cuyos vértices se forman células semejantes a conidias y que corresponden, bastante bien en su aspecto general, al *Verticillium*; aerobio, licúa la gelatina lentamente, no fermenta notablemente los azúcares, pero forman vestigios de alcohol".

Este género contienen hasta el presente, una sola especie *N. Reukaufii* (Gruss) Diddens et Lodder.

Consideramos necesario mantener este género *Nectaromyces* o como a subgénero de *Cándida*, pues la formación de su aparato conidial es muy característico y formaría una transición hacia los *Hyphomicetes Mucedinaceae* de micelio filamentoso, de los cuales difiere porque su fructificación no se forma sobre ramas de un micelio aéreo. Damos a continuación la definición del género *Nectaromyces* (Gruss) emend. Negroni et Daglio: "Seudomicelio bien desarrollado o rudimentario (células cruciales o en forma de aeroplano), micelio filamentoso cilíndrico o de transición hacia el pseudomicelio. Los blastosporos pueden formar un aparato esporífico de dos tipos: a) tipo *Cándida* y b) tipo *Hormodendron* (*Hyalodendron*) con formación de ramas de conidióforo, verticilos (primario y secundario y cadenas de pseudoconidias, las cuales pueden presen-

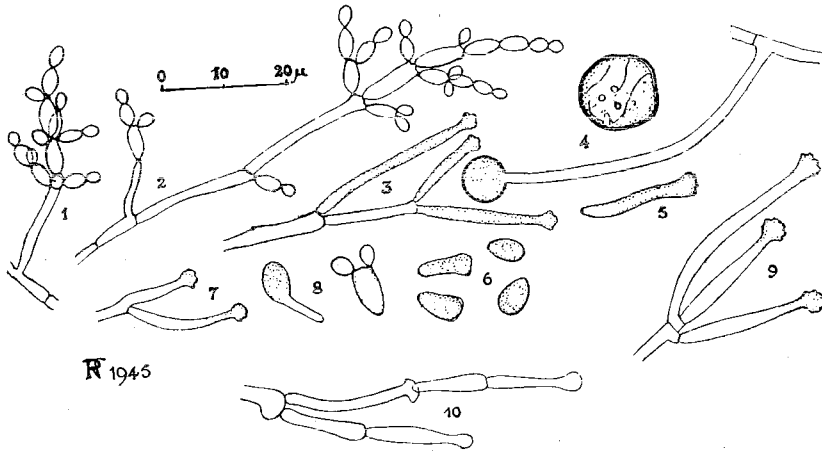


Fig. 1. Diversos aspectos del *Nectaromyces rattus*, dibujados con cámara clara, en agar mosto y en el medio de Gorodkova. 1 y 2: aparato esporífero. 3, 7 y 9: conidióforos ramificados. 10: células con extremos dilatados. 4: clamidosporos. 5 y 6: pseudoconidias con separadores rudimentarios.

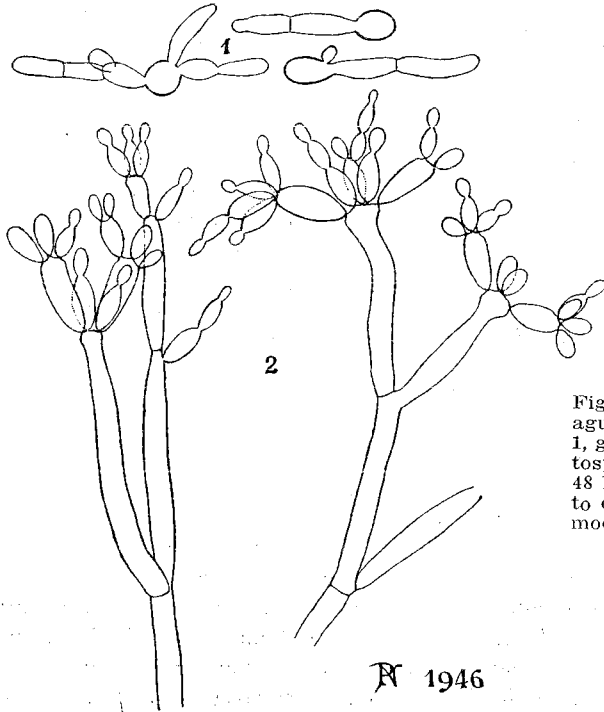


Fig. 2. *N. rattus*, en agua de miel al 20 %. 1, germinación de blastosporos al cabo de 48 hs. a 20°C. 2, aparato esporífero tipo Horodendron al cabo de 48 hs. a 37°C.

tar separadores. Seudoconidias y blastosporos globulosos y ovaes largos. Pueden formar clamidosporos. En el mosto de cerveza forman depósito, anillo y a veces, una película tenue. Metabolismo oxidativo". Especie tipo *N. Reukaufii* (Grüss) Diddens y Lodder, 1942.

Nuestra cepa difiere de la especie tipo por sus caracteres micromorfológicos caracterizado por formar en el agua de miel al 20 % un aparato esporífico tipo *Hormodendron* y por sus propiedades fisiológicas. Creemos que el aparato esporífico mencionado está formado por seudoconidias y no por verdaderos esporos por los hechos siguientes: a) no detienen su vida vegetativa una vez formados, observación ya efectuada por Nadson y Krassilnikov quienes notaron que las conidias podían seguir brotando en el medio donde se haban originado. b) ausencia de un micelio aéreo de fructificación. Consideramos a nuestra cepa como una especie nueva que por haber sido aislada del bazo de rata la designamos *N. rattus* y cuyos caracteres son los siguientes:

Nectaromyces rattus, nov. spec.

Seudomicelio bien desarrollado, puede formar también, micelio filamentoso cilíndrico y de transición hacia elseudomicelio. Las ramas del conidióforo y, en ocasiones, las seudoconidias de primer orden tienen a dilatarse en su extremidad distal en forma de cabezuelas y a presentar separadores. En el agua de miel al 20 % y a 37°C. el aparato esporífico es del tipo *Hormodendron* (*Hyalodendron*).

Medios de cultivo sólidos: desarrollo blanquecino, granuloso, húmedo y brillante sin la formación de micelio aéreo.

Mosto de cerveza: forma una película tenue, anillo incompleto y sedimento.

Blastosporos globulosos de 2,34 μ . a 8,18 μ . y ovoides. Seudoconidias de primer orden ovaes largas de 8,18 x 2,5 μ .

Zimograma: negativo. Auxanograma de los hidratos de carbono: positivo para la glucosa, galactosa, maltosa, sacarosa y rafinosa. Negativo para la lactosa. Auxanograma del nitrógeno: Positivo para la peptona y negativo para la úrea, asparagina, sulfato de amonio y nitrato de potasio. No se desarrolla en el medio sintético con alcohol etílico. Coagula y acidifica la leche. Temperatura óptima de crecimiento: 37°C.

Habitat: bazo de rata gris.

Agradecemos al Dr. Savino por el envío del material mencionado y al profesor Dr. G. Basombrio por su gentileza en escribirnos en latín el diagnóstico del subgénero y especie nueva.

Subgénero *Nectaromyces*.

"Pseudomycelium bene auctum aut rudimentarium (cellulae in forma crucis vel aeroplani), mycelium cylindricum filamentosum aut transitionis ad pseudomycelium. Blastospori configere possunt apparatus sporiferum duorum typorum: a) Typus *Candida*. b) Similis *Verticillio* aut *Hormodendroni* (*Hyalodendron*) tunc cum formatione ramorum conidiophori, verticillia (primaria et secundaria) et catenula pseudoconidiarum, quae separatores rudimentarios ostende-

re possunt. Pseudo-conidiae blastosporique globosi, ovales oblongi. Chamidosporos configere possunt. In musto cerevisiae sedimentum formant anulum et interdum pelliculam tenuem. Metabolismum oxidativum".

Species Typus: *N. Reubaufii*.

Nectaromyces rattus Negroni et Daglio: "Aspectum generale generi. Rami conidiophori et nonnunquam primi ordinis conidiae dilatari in distale extremitate in forma capitulorum ad rudimentarios separatores ostende protendunt. Apparatus sporiferus similis est *Hormodendroni* (Hyalodendrom) in aqua mellis ad 20 % et 37°C.

Solida cultivi media: Incrementum albidum, humidum et nican-tem sine aeri micellii formatione. In musto cerevisiae pelliculam tenuem anulum non integrum et sedimentum format.

Blastospori globosi 2,34 ad 8,19 μ . Primi ordinis pseudoconidiae 8 ad 18 μ y 2,5.

Zimogramma hidrocarbonatorum: negativum. Hidrocarbonatorum auxonogramma: glucosae, galactosae, sacarosae, maltosae, rafinosae positivum. Lactosae negativum. Nitrogeni auxonogramma: peptonae positivum; ureae, asparaginae, amonii sulfato et kalii nitrato negativum. Nullum incrementum in ethylico alcohole. Lactam coagulat acidumque redit. Temperatura optima incrementi 33°C.

Habitat: in muris grissei (leucophei coloris) splene".

BIBLIOGRAFÍA

1. NEGRONI P. — Rev. Inst. Bact., 1940, **9**, 239.
2. DIDDENS H. A. y LODDER J. — Die Anaskosporogenen Hefen. II. Teil., Amsterdam, 1943.
3. NADSON G. A. y KRASSILNIKOV N. A. — Bull. Soc. Myc. France, 1927, **43**, 232.
4. CIFERRI R. y REDAELLI P. — Ann. Mycologici, 1929, **27**, 243.
6. LANGERON M. y GUERRA P. — Ann. Paras. Hum. et. Comp., 1938, **16**, 35.
7. LODDER J. — Die Anaskosporogenen Hefen. Erste Hälfte. Amsterdam, 1934.
8. MACKINNON J. E. y ARTAGAVEYTIA A. R. C. — J. Bact. 1945, **49**, 317.
9. SCHOLHORN K. — Sur la fermentation de quelques levures de nectars des plantes d'hiver. These, Gêneve, 1920.