

Potencial biotecnológico de levaduras identificadas en Norte de Santander. Biotechnological potential of yeasts identified in Norte de Santander.

Alba Luz Rangel Riaño¹. Liliana Yanet Suárez Contreras².

¹ Magister en ciencias biológicas. Universidad Francisco de Paula Santander. Cúcuta. Colombia.
Grupo de investigación Ambiente y Vida. Cúcuta. Colombia.

² Magister en biología, énfasis Genética, Laboratorio de Biotecnología Molecular, Departamento del
Ciencias del Medio Ambiente. Universidad Francisco de Paula Santander. Cúcuta. Colombia. Grupo de
investigación Ambiente y Vida. Cúcuta. Colombia.

E-mail: lilianayanethsc@ufps.edu.co

Recibido: 24/05/2021
Aceptado: 07/10/2021

Cite this article as: A. Rangel y L. Suarez. "Potencial biotecnológico de levaduras identificadas en Norte de Santander", *Prospectiva*, Vol 20, N° 1, 2022.

<http://doi.org/10.15665/rp.v20i1.2729>

La editorial y el comité editorial de esta revista han emitido una Expresión de Preocupación sobre este artículo debido a una disputa no resuelta relacionada con la autoría del manuscrito.

Actualmente se está llevando a cabo una investigación institucional conforme a las directrices éticas del COPE.

Mientras se resuelve este asunto, recomendamos a los lectores interpretar los hallazgos del artículo con precaución.

La declaración completa puede consultarse aquí: <http://ojs.uac.edu.co/index.php/prospectiva/article/view/3766>

RESUMEN

Las levaduras son organismos eucariotas llamados hongos unicelulares, presentan morfología ovalada, esférica, cilíndrica o elipsoidal. Este grupo ha sido explotado en diversos campos industriales y del sector agroalimentario, específicamente en la producción de cervezas, pan y vino. Aislados de levaduras obtenidos en diferentes ambientes del departamento Norte de Santander, se mantienen conservados en el Banco de Cepas de la Universidad Francisco de Paula Santander. Con el objetivo de caracterizar e identificar estos microorganismos, se realizó la recuperación y purificación de las cepas, su morfología fue descrita macroscópica y microscópicamente; se identificaron mediante galería bioquímica API 20 C AUX; se hicieron pruebas de viabilidad a diferentes métodos de conservación, y finalmente almacenadas en el banco de cepas. Según los resultados, las 25 cepas obtenidas corresponden a: *Candida guilliermondii* (9), *Saccharomyces cerevisiae* (5), *Candida tropicalis* (4), *Candida famata* (2), *Candida utili* (1), *Cryptococcus laurentii* (1), *Cryptococcus albidus* (1), *Trichosporon mucoides* (1) y *Candida pelliculosa* (1). Se estableció que el método de conservación con glicerol al 30 % es ideal para levaduras. Las cepas pueden utilizarse en investigación y explorar su potencial biotecnológico en diferentes sectores productivos.

Palabras clave: Galería API20C, *Candida*, sp., *Cryptococcus*, sp., *Trichosporon*, sp., *Saccharomyces*, sp.

ABSTRACT

Yeasts are eukaryotic organisms called unicellular fungi, they show oval, spherical, cylindrical, or ellipsoidal morphology. This group has been used in various industrial fields and the agri-food sector, specifically in the production of beers, bread, and wine. Yeast isolates obtained in different environments in the Norte de Santander department, are kept in the Strain Bank of the Francisco de Paula Santander University. In order to characterize and identify these microorganisms, the strains were recovered and purified, their morphology was described macroscopically and microscopically; they were identified using the API 20 C AUX biochemical gallery; viability tests were carried out on different conservation methods, and finally stored in the strain bank. According to the results, the 25 strains obtained correspond to: *Candida guilliermondii* (9), *Saccharomyces cerevisiae* (5), *Candida tropicalis* (4), *Candida famata* (2), *Candida utili* (1), *Cryptococcus laurentii* (1), *Cryptococcus albidus* (1), *Trichosporon mucoides* (1), and *Candida pelliculosa* (1). It was determined that the 30% glycerol preservation method is ideal for yeasts. The strains can be used in research and explore their biotechnological potential in different productive sectors. The strains can be used in research and explore their biotechnological potential in different productive sectors. The genera: *Candida*, *Cryptococcus*, and *Trichosporon* are of clinical consideration, which should be handled with caution.

Key words:: Galería API20C, *Candida*, sp., *Cryptococcus*, sp., *Trichosporon*, sp., *Saccharomyces*, sp.

INTRODUCCIÓN

Los microorganismos son la clave para el funcionamiento de los sistemas biológicos, biotecnológicos y el mantenimiento de la vida en el planeta. Por lo tanto, las prácticas para la conservación de su diversidad microbiana son indispensables para mantener los incontables beneficios que se pueden obtener de ellos, donde el conocimiento de su diversidad y actividad metabólica han permitido y permitirá destacar su potencial biotecnológico para sintetizar mejores productos y procesos [1], [2].

Las levaduras o también llamadas hongos unicelulares, son un tipo de microorganismos que se reproducen asexualmente por gemación y algunos por escisión; dependiendo de las circunstancias y la especie, muchas pueden producir hifas y pseudohifas, es decir, no tienen septos verdaderos, sino estrechamientos o constricciones que son prolongaciones de las blastoconidias [3]; además de ser un modelo de la investigación biomédica, tienen diversas aplicaciones en la industria alimentaria (la elaboración de alimentos específicamente en la fermentación), en agricultura y la producción de etanol combustible [4], [5]. Las levaduras degradan moléculas complejas como hidratos de carbono y azúcares para transformarlos en diversos compuestos, tales como el alcohol y el dióxido de carbono [4], [6]. Estos microorganismos tienen una amplia aplicación en procesos industriales, donde la biotecnología ha sido una herramienta clave para su investigación y desarrollo [7], [8].

La selección de un microorganismo para uso industrial debe realizarse bajo las siguientes condiciones: que el microorganismo produzca la sustancia de interés; se encuentre disponible en cultivo puro; sea genéticamente estable, tenga la capacidad de crecer en cultivos a gran escala, y su especie se encuentre identificada [9], [10]. Teniendo en cuenta esto último, la identificación de levaduras se puede llevar a cabo atendiendo a cuatro criterios diferentes: morfológicos, bioquímicos, inmunológicos o genéticos (mediante PCR o secuenciación de ADN genómico). Los criterios morfológicos pueden ser, a su vez, macro (tienen en cuenta el aspecto de las colonias de levaduras al crecer en los diferentes medios de cultivo) o microscópicos (estas características son muy útiles para la identificación de algunas especies de levaduras);

Los criterios bioquímicos se basan en la capacidad de los microorganismos para asimilar ciertos nutrientes [11] los cuales se encuentran disponibles comercialmente y tanto su uso como su

interpretación son relativamente simples. Entre estos se encuentra la Galería API la cual fue el primer sistema de identificación que asoció las pruebas bioquímicas y una base de datos (software) de identificación, es un sistema estandarizado y miniaturizado de técnicas existentes, incluidas las complejas para realizar y leer [9] como lo son los criterios bioquímicos enzimáticos o la identificación mediante criterios inmunológicos.

El uso de sistemas de identificación microbiana ha apoyado la tradición institucional de la investigación microbiológica en Colombia desde el siglo XX, la cual ha contribuido en la búsqueda de soluciones a problemas relacionados con los campos de la salud, la agricultura y la industria, consiguiendo un legado invaluable y un conjunto de colecciones de microorganismos que forman la base de futuras investigaciones. Las colecciones microbianas se encargan de preservar y garantizar la disponibilidad de los microorganismos para la investigación, y son una etapa fundamental el aislamiento, la identificación, la caracterización y conservación de estos microorganismos para la obtención de productos por vías biotecnológicas [12]. Entre las más reconocidas se encuentran los bancos de cepas y genes del Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional de Colombia [13], la Universidad Católica de Manizales, el Instituto Colombiano de Medicina Tropical, el Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas (SINCHI) y El Centro Nacional de Investigaciones del Café (CENICAFÉ) [10]. Un trabajo similar se realiza en la Universidad Francisco de Paula Santander, donde se cuenta con el banco de cepas ubicado en el Centro Experimental Campos Elíseos. En este banco se encuentran preservados con diferentes métodos de conservación algunos géneros de bacterias, hongos, actinomicetos y levaduras aislados de diferentes ambientes naturales, obtenidos de proyectos de investigación ejecutados en el departamento Norte de Santander, las cuales no habían sido identificadas ni conservadas anteriormente.

Por esta razón los objetivos del trabajo fueron: recuperar, caracterizar morfológicamente e identificar mediante pruebas bioquímicas de la galería API 20 C AUX, las 25 cepas de levaduras pertenecientes al banco de cepas; establecer un nuevo método de conservación ideal para estos microorganismos, conformando así el banco de cepas; y destacar su potencial biotecnológico para sus futuras aplicaciones.

2. METODOLOGÍA

Recuperación y purificación de levaduras: En el Banco de Cepas de la Universidad Francisco de Paula Santander se mantienen conservadas 25 cepas de levaduras aisladas de diferentes ambientes naturales del departamento. Las cepas madres se mantuvieron conservadas en cajas Petri con agar YGC, en tubos con agar inclinado con capa de aceite mineral y microtubos con solución salina. Los microorganismos conservados fueron purificados para su recuperación, que se realizó mediante siembras repetitivas de la cepa madre a medios de cultivo agar YGC (agar cloranfenicol glucosa) y YEPD (extracto de levadura peptona dextrosa) utilizados para el crecimiento y desarrollo de levaduras [14], [15], los últimos pases sucesivos se hicieron en medios sólidos YGC y agar Sabouraud y se incubaron durante 48 h a 28°C, condiciones de crecimiento utilizadas por Bonifaz, A [16].

Identificación con kit API20C: Luego de recuperadas y purificadas las levaduras, se identificaron con la galería bioquímica API 20C AUX (BioMérieux). Galería constituida de 20 cúpulas que contienen substratos deshidratados, que permitió realizar 19 pruebas de asimilación, a partir de un cultivo joven (48h) de la levadura [11], [17], [18]. Este proceso de identificación se llevó a cabo en 3 fases: En la primera se realizó una suspensión en 2 ml de solución salina NaCl 0,85% p/v estéril hasta obtener una turbidez igual al patrón 2 de McFarland (incluido en el kit), en la segunda se transfirió 100µL de esta suspensión a una ampolla de C Medium y homogenizó evitando la formación de burbujas y por último se llenaron las cúpulas con 100µL la suspensión evitando la formación de burbujas y creando un nivel horizontal; se incubó a 29°C durante 48-72 horas. Para realizar la lectura de estas reacciones se hizo por comparación con un control de crecimiento (una cúpula más turbia que el testigo indica una reacción positiva). Se determinó la presencia de hifas (micelio) o de pseudohifas (pseudomicelio) con la ayuda

del medio RAT (Riz agar Tween) depositando una gota de la suspensión obtenida en API NaCl 0,85% Medium al medio RAT. Este ensayo constituye el N°21 de la galería. Se considera positivo en caso de evidencia de la presencia de hifas o de pseudohifas, completando así la lectura de la galería y generando un perfil numérico, que luego se introdujo en el programa informático: Apiweb V.4., permitiendo confirmar el nombre para cada microorganismo [3].

Caracterización morfológica: una vez identificadas, se procedió a la tipificación macroscópica y microscópica de levaduras a partir de características físicas, como: forma, color, elevación, borde, superficie y detalles visuales [19]. La observación microscópica se realizó por tinción simple con azul de lactofenol, tinción especial que se realizó a partir de cultivos y que tiñó la quitina de la pared de la levadura, ayudando en su identificación [20]. Para la tinción se colocó una gota del colorante en un portaobjeto y se suspendió la levadura a observar, se cubrió con una laminilla cubreobjeto y se observó en un microscopio Olimpux LED con los objetivos 10X y 40X.

Conservación de las Cepas: Para preservar las cualidades genéticas de las levaduras identificadas, se creó un banco de trabajo de cultivos en medios Sabouraud (caja de Petri, tubo inclinado y medio líquido), conservadas en congelación a 4°C con 30% de glicerol; también en criocongelación a -80°C en microtubos con glicerol al 30 % siguiendo la metodología de Ortiz, T [21].

3.RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La técnica utilizada en la reactivación y purificación de los microorganismos permitió obtener cultivos puros que facilitaron la identificación. Además, el método de aislamiento propuesto admitió separar los microorganismos para su conservación. Con el método de identificación bioquímica, Kit API 20 C. AUX, se lograron identificar 25 morfotipos de levaduras correspondientes a 4 géneros: *Candida*, *Saccharomyces*, *Cryptococcus*, *Trichosporon*; distribuidos de la siguiente forma: *Candida guilliermondii* (9), *Saccharomyces cerevisiae* (5), *Candida tropicalis* (4), *Candida famata* (2), *Candida utilis* (1), *Cryptococcus laurentii* (1), *Cryptococcus albidus* (1) *Trichosporon mucoides* (1) y *Candida pelliculosa* (1). Todos los índices de identificación (%ID) en cuanto a género y especie estuvieron por encima del 80%, porcentajes óptimos según la tabla de identificación contenida en el Kit; las levaduras LYP3, LYP5, que correspondieron a *Candida guilliermondii* y LNS14 a *Cryptococcus albidus*, presentaron los índices de identificación más altos (99.7 %) (Tabla 1).

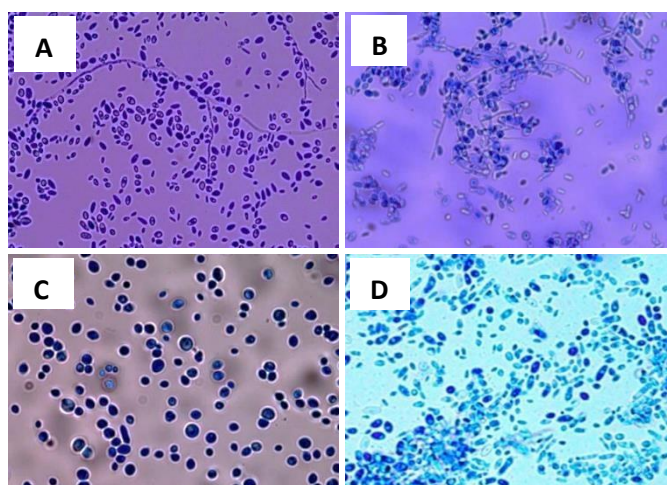
Tabla 1. Cepas Identificadas con el sistema API 20C AUX.

CODIGO	GÉNERO	ESPECIE	% ID
LYP1	<i>Candida</i>	<i>tropicalis</i>	95.8
LYP2	<i>Candida</i>	<i>tropicalis</i>	80.7
LYP4	<i>Candida</i>	<i>tropicalis</i>	88.9
LYP6	<i>Candida</i>	<i>tropicalis</i>	84.7
LYP3	<i>Candida</i>	<i>guilliermondii</i>	99.7
LYP5	<i>Candida</i>	<i>guilliermondii</i>	99.7
LNS08	<i>Candida</i>	<i>guilliermondii</i>	84.3
LNS09	<i>Candida</i>	<i>guilliermondii</i>	84.3
LNS11	<i>Candida</i>	<i>guilliermondii</i>	84.3
LNS12	<i>Candida</i>	<i>guilliermondii</i>	84.3
LNS13	<i>Candida</i>	<i>guilliermondii</i>	84.3
CEPA 1	<i>Candida</i>	<i>guilliermondii</i>	99.7
CEPA 3	<i>Candida</i>	<i>guilliermondii</i>	84.3
LNS07	<i>Candida</i>	<i>pelliculosa</i>	93.3
LV001	<i>Candida</i>	<i>Utilis</i>	98.5

LNS15	<i>Candida</i>	<i>Famata</i>	98.2
CEPA 2	<i>Candida</i>	<i>Famata</i>	98.2
LV002	<i>Saccharomyces</i>	<i>cerevisiae 1</i>	98.7
LV003	<i>Saccharomyces</i>	<i>cerevisiae 1</i>	97.9
LV005	<i>Saccharomyces</i>	<i>cerevisiae 1</i>	98.7
LYP	<i>Saccharomyces</i>	<i>cerevisiae 1</i>	98.7
BEER YEAST	<i>Saccharomyces</i>	<i>cerevisiae 1</i>	84.3
LNS10	<i>Cryptococcus</i>	<i>laurentii</i>	94.4
LNS14	<i>Cryptococcus</i>	<i>Albidus</i>	99.7
S04	<i>Trichosporon</i>	<i>mucoides</i>	98.1

Además de la identificación bioquímica es importante conocer las características morfológicas de cada especie. Mediante la caracterización microscópica de levaduras, se logró la individualización de diferentes estructuras típicas. Se observaron células esféricas, ovoides, elipsoidales e incluso alargadas (figura 1). La mayoría de las levaduras presentaron células redondeadas u ovaladas y elipsoidales, sin pseudohifas, estructuras típicas del género *Sacharomhyces* (figura 1C); en el caso de algunas levaduras del género *Candida*, mostraron la formación de pseudohifas (figura 1A y 1B), las células pequeñas, corresponden a células recién formadas por gemación que no han alcanzado su tamaño normal; y el género *Cryptococcus* presenta células esféricas y ovaladas. De esta manera se describieron las características macroscópicas y microscópicas de todas las especies identificadas.

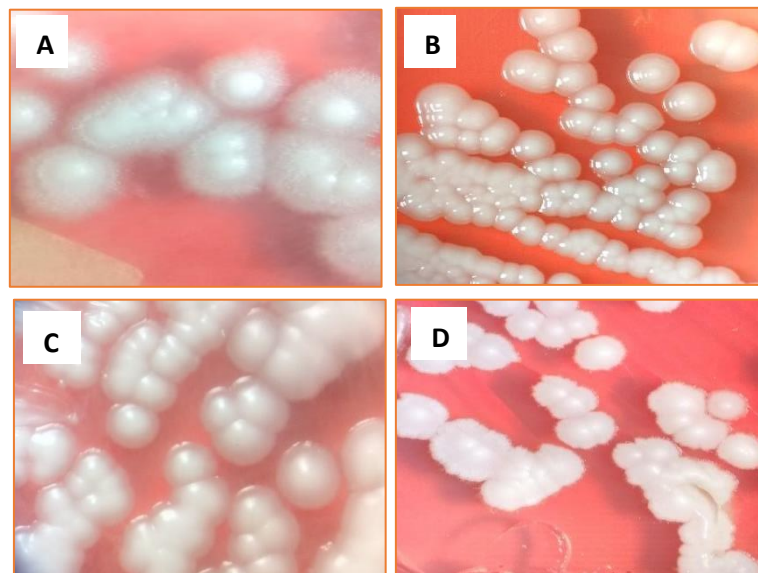
Figura 1. Aspecto microscópico de células: A. *Candida tropicali*; B. *Candida guilliermondii*; C. *Sacharomyces cerevisiae*; D. *Cryptococcus laurentii*. Aumento 40X.



Es común que en la morfología macroscópica de aislados de levaduras se encuentren diversas características con relación al color (blanco, pigmentación gris o azul), forma (circular o irregular), borde (irregular o liso) y elevación (plana o elevada); dentro de una misma especie podemos encontrar diferencias entre la morfología de las levaduras, *Saccharomyces cerevisiae* se ha reportado con pigmentación gris, forma irregular, elevación y colonias grandes; también colonias rugosas y morfología pseudohifal de colonias lisas [22], [19], [23], como las obtenidas en este estudio: colonias de forma circular, color blanco, elevación convexa a umbonada, superficie lisa, borde entero (figura 2). El desarrollo morfológico de las colonias pudo visualizarse a lo largo del tiempo debido a que las levaduras pueden presentar cambios en las características tras su crecimiento [24], [19]. Diversos estudios han demostrado que la morfología de la levadura afecta los procesos de fermentación, la morfología pseudohifa no solo afecta el tiempo y la eficiencia de la fermentación, sino que también puede afectar

los sistemas de centrifugación, uno de los pasos más costosos y complejos del proceso para recuperar las células de levadura para los ciclos de fermentación posteriores. Además, un estudio reciente de Reis, *et al.* [22] mostró que cierta cepa silvestre de *S. cerevisiae* que exhibe una morfología pseudohifal a menudo se asocia con una menor producción de etanol y un mayor contenido de azúcar residual en el mosto fermentado [24]. Para el género *Candida* se observaron células esféricas, ovoides, elipsoidales e incluso alargadas [11], [25], colonias circulares, blancas, planas, con borde entero, lisa y el detalle óptico brillante [26]. En *Candida albicans*, se sabe que la morfología de la colonia está relacionada con el tipo de célula: las colonias lisas contienen solo blastoporos, mientras que las colonias rugosas consisten en diferentes proporciones de hifas y pseudohifas verdaderas. De hecho, la formación de pseudohifas influye en la morfología de la colonia, que luego aparece como un cuerpo central desde el que se extienden numerosas ramas [27].

Figura 1. Morfología macroscópica de colonias: A. *Candida tropicalis*; B. *Candida guilliermondii*; C. *Sacharomyces cerevisiae*; D. *Cryptococcus laurentii*.



Dada la distribución natural de los hongos levaduriformes y debido a su importancia biotecnológica, son explotadas en múltiples sectores: industrial, agrícola, entre otros; razón por la cual es indispensable que a la colección se le realice la correcta identificación por diferentes métodos bioquímicos o genéticos; uno de los métodos fenotípicos más empleados en la identificación de aislamientos clínicos de levaduras, se basa en características de asimilación de carbohidratos como el del sistema comercial API 20C AUX (BioMérieux), que al seguir las instrucciones del fabricante correctamente, revela resultados confiables; este es un método que permite la identificación de levaduras por medios bioquímicos mediante 19 reacciones de asimilación de azúcares diferentes (D-glucosa, glicerol, 2-ceto-gluconato de calcio, L-arabinosa, D-xilosa, adonitol, xilitol, D-galactosa, inositol, D-sorbitol, metil-aD-glucopiranosido, N-acetil-glucosamina, D-celobiosa, D-lactosa, D-maltosa, D-sacarosa, D-trehalosa, D-melezitosa, D-rafinosa) y un pozo 0 que se utilizó como control negativo para la comparación [28]. Al contar con un software que almacena una amplia base de datos para determinación de especies, requirió poco tiempo, fue eficiente y más preciso que otros métodos fenotípicos [29], [17].

En la actualidad, el impacto del uso de las levaduras va más allá de la producción de alimentos y bebidas, de la producción de pan, cerveza y vino usando comúnmente *Saccharomyces cerevisiae*. En la industria de alimentos las levaduras se utilizan como fuente de obtención de vitaminas del complejo B, pigmentos, cofactores, extractos y producción de biomasa, entre otros. Algunas levaduras presentan un fuerte control

antifúngico que facilita su uso como controladores del deterioro de alimentos. *S. cerevisiae* se ha venido usando ampliamente como suplemento alimenticio en vacunos, porcinos y aves, generando un incremento en el peso y talla de los ejemplares suplementados. Entre sus aplicaciones, también se encuentra la producción de etanol para su uso como combustible, la cual se considera una industria emergente y quizás una de las de mayor proyección económica entre las que usan levaduras como catalizadores de este bioproceso [5]

La biosíntesis de los carotenoides en distintas especies de levadura se ha estudiado intensamente, entre los géneros que los producen se encuentran *Cryptococcus*, *Cystofilobasidium*, *Dioszegia*, *Erythrobasidium*, *Lalaria*, *Occutifur* y *Rhodotorula* uno de los géneros que se ha analizado con mayor profundidad; de hecho, se descubrió que distintas especies del género *Rhodotorula* (*R. minuta*, *R. glutinis*, *R. graminis*, *R. mucilaginosa* y *Rhodotorula sp. nov.*) tienen perfiles similares de torularrodina, toruleno, γ -caroteno y β -caroteno, confirmando que la vía de síntesis de los carotenoides es similar o está conservada en este género. En general, algunas levaduras antárticas oleaginosas del género *Rhodotorula*, pueden considerarse como fábricas celulares de lípidos con potencial biotecnológico, pero se requieren estudios más enfocados al metabolismo de las levaduras adaptadas al frío, que conduzcan a la comprensión de las vías y los mecanismos moleculares de la biosíntesis y acumulación de lípidos. Considerando todo lo anterior, las levaduras antárticas oleaginosas del género *Rhodotorula*, representan un buen modelo de estudio para aportar nuevo conocimiento y desarrollar novedosas aplicaciones con interés biotecnológico, como la producción de biodiésel. [30]. El género *Rhodotorula* presenta la capacidad de formar cápsulas que actúan como escudo frente a ambientes adversos, estas ventajas adaptativas le proporcionan a este género un potencial biotecnológico como controlador de fitopatógenos. [31]

Entre los géneros identificados también encontramos, *Trichosporum cutaneum* que desempeña un importante papel en los sistemas de digestión aeróbica de aguas residuales debido a su enorme capacidad de oxidación de compuestos orgánicos, incluidos algunos que son tóxicos para otras levaduras y hongos, como los derivados fenólicos [32]; *Candida utilis* se utiliza principalmente en la producción de proteína unicelular, debido a su capacidad de utilizar una variedad de fuentes de carbono, como la paja de arroz, almidón de papa en aguas residuales, aceite de aguas residuales y melaza. [33].

Dados los avances que se han tenido gracias a las investigaciones en relación con el uso y aplicación de las levaduras estas deben de ser conservadas para su posterior aprovechamiento. La efectividad de la conservación de los recursos microbianos depende en gran medida de la estabilidad de los microorganismos a la congelación cuando los cultivos puros y homogéneos se almacenan en condiciones que garanticen su viabilidad, pureza y estabilidad genética, durante largos períodos de tiempo, para darles un manejo adecuado a las cepas y en la ejecución de proyectos con fines específicos [12], [34]. El método de conservación estuvo acompañado del compuesto crioprotector glicerol, para recubrir las células y evitar lisis o cambios osmóticos debido a la disminución de temperatura en la suspensión [35], [36]. Según la prueba de viabilidad, el glicerol mantuvo inactivas las características típicas de las levaduras, la viabilidad se comprobó con base en la estabilidad morfológica de la colonia (color, elevación, superficie) y célula (estructuras microscópicas), después del tiempo de congelación en el momento de la siembra se alcanzó un crecimiento óptimo y libre de contaminación; indicando que la conservación con glicerol al 30 %, es un método apropiado para preservar levaduras por largos periodos de tiempo [19], [37], [38] y de esta manera mantener las nueve especies de levaduras identificadas en este trabajo de tan sólo 25 morfotipos aislados previamente, este es un avance importante en el enriquecimiento de material biológico del Banco de Cepas de la UFPS.

4.CONCLUSIONES

La Galería Bioquímica API 20C AUX, permitió la identificación de los aislados de levaduras de los géneros *Candida* sp., *Saccharomyces* sp., *Cryptococcus* sp., y *Trichosporon* sp., microorganismos con importancia biotecnológica en diferentes sectores industriales y agropecuarios de la región, debido al alto potencial que cada uno posee.

Se determinó que la conservación para estas especies de levaduras con el 30% de glicerol es un método que permite su mantenimiento y preservación por largos periodos de tiempo; permitiendo conformar el banco de levaduras para docencia e investigación.

Es importante resaltar los diferentes usos y aplicaciones que tienen las levaduras con potencial biotecnológico, estas pueden ser estudiadas más a fondo y aprovechadas en la industria alimentaria, farmacéutica, agrícola entre otras, lo que ayudara a dar soluciones a algunas de las problemáticas ambientales del departamento.

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Ciencia Agrarias y del Ambiente de la UFPS- Cúcuta, por la financiación de este proyecto.

A la Ingeniera Jennifer Andrea Nieto Parada y a la Ingeniera Lady Johana Moreno Villamizar por su valiosa colaboración en este proyecto.

POTENCIAL CONFLICTO DE INTERESES

No se presenta ningún tipo de conflicto de Intereses

REFERENCIAS

- [1] A. Díaz, A. Villareal, S. De los Santos, F. Parra, A. Sepúlveda, y M. Yadira, «Potencial biotecnológico y ambiental de los microorganismos.», *Soc. Académica*, pp. 52-63, enero 7.
- [2] N. Montaña, A. Sandoval, S. Camargo, y J. Sánchez, «Los microorganismos: pequeños gigantes», *Elementos*, vol. 77, p. 10, 2010.
- [3] G. Estrada y M. Ramírez, *Micología General*. Manizales - Caldas: Cárol Castaño Trujillo, 2019. [En línea]. Disponible en: http://www.ucm.edu.co/wp-content/uploads/libros/Micologia_general.pdf
- [4] J. Cuevas, «Los Hongos: Héroes y villanos de la prosperidad humana», *Rev. Digit. Univ.*, vol. 17 (9), p. 10, 2016.
- [5] J. Vásquez, M. Castrillón, y Z. Monsalve, «Actualización en caracterización molecular de levaduras de interés industrial», *Rev. Colomb. Biotecnol.*, vol. 18, n° 2, p. 12, 2016, doi: 10.15446/rev.colomb.biote.v18n2.61530.
- [6] M. Quirós, V. Rojas, R. González, y P. Morales, «Selection of non *Saccharomyces* yeast strains for reducing alcohol levels in wine by sugar respiration», *Int. J. Food Microbiol.*, vol. 181, pp. 85-91, jul. 2014, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2014.04.024.
- [7] F. Argote, R. Cuervo, E. Osorio, Delgado-Ospina, y H. Villada, «Evaluation of ethanol production from molasses with native strains *Saccharomyces cerevisiae*.», *Biotecnol. En El Sect. Agropecu. Agroindustrial*, vol. 13, n.º 2, pp. 40-48, 2015, doi: 10.18684/BSAA(13)40-49.

- [8] C. Machín, N. Antonio, G. Carralero, C. Amarilys, y G. Rodríguez, «Levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la producción de alcohol», *Rev. ICIDCA*, vol. 50, pp. 20-29, 2016.
- [9] L. Rubio, «Evaluación del grado de contaminación microbiana con *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sanguis* en fresas de diamante, posterior a la preparación cavitaria clase I según Black, previamente autolavados», Universidad central del Ecuador, Quito, 2015. [En línea]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/4563/1/T-UCE-0015-157.pdf>
- [10] L. Bermeo, D. Flórez, M. Ocampo, y M. Franco, «Colección de cepas microbianas usadas en formación y proyectos de investigación aplicada en el centro para la formación cafetera SENA Regional Caldas», *Rev. Nova*, vol. 2, n° 1, pp. 8-15, 12, doi: 10.23850/25004476.615.
- [11] M. Linares y F. Solís, «Identificación de levaduras», *Rev. Iberoam. Micol.*, p. 20, 2015.
- [12] A. Sosa *et al.*, «Collection of microorganisms with potential as additives for animal nutrition at the Institute of Animal Science», *Cuban J. Agric. Sci.*, vol. 51, p. 10, octubre 4.
- [13] L. Lopez, «Actinomicetos aislados del suelo del Jardín botánico de la Universidad Tecnológica de Pereira», *Sci. Tech.*, vol. 19, n° 2, pp. 223-229, 2014, doi: 10.22517/23447214.8397.
- [14] K. Vaquera, A. Tapia, A. Hernández, I. Guerrero, y J. Guzmán, «Optimización de un medio de cultivo para la producción de levaduras con interés biotecnológico», *JÓVENES EN Cienc.*, vol. 4, n° 1, p. 6, 2018.
- [15] C. Barranco, L. Pérez, N. Alfaro, y J. Escorcía, «Evaluación de medios de cultivo naturales para el mantenimiento de *Colletotrichum sp.* y *Saccharomyces cerevisiae*», *Sci. Tech.*, vol. 23, n° 3, pp. 397-404, 2018.
- [16] A. Bonifaz *et al.*, «Evaluación de MALDI-TOF MS para la identificación de levaduras patógenas oportunistas de muestras clínicas», *Rev. Chil. Infectol.*, vol. 36, n° 6, pp. 790-793, 2019, doi: 10.4067/S0716-10182019000600790.
- [17] M. Alvarez, F. Tucta, E. Quispe, y V. Meza, «Incidencia de la inoculación de microorganismos benéficos en el cultivo de fresa (*Fragaria sp.*)», *Sci. Agropecu.*, vol. 9, n° 1, pp. 33-42, 2018, doi: 10.17268/sci.agropecu.2018.01.04.
- [18] P. Castillo, C. Betancur, y E. Pardo, «Caracterización de microorganismos con potencial probiótico aislados de estiércol de terneros Brahman en Sucre, Colombia», *Rev. Investig. Vet. Perú*, vol. 29, n° 2, pp. 438-448, 2018, doi: 10.15381/rivep.v29i2.14482.
- [19] L. Trujillo y S. Hernández, «Aislamiento y caracterización de levaduras presentes en el fruto del *Syzygium malaccense* (l.) Merr. & L. M Perry (pomorroso) en la comuna 1 de la ciudad de Neiva-Huila», *Ing. Región*, vol. 13, p. 10, 2015, doi: 10.25054/22161325.707.
- [20] N. Morales y N. Castro, «Métodos de diagnóstico en micología», *Rev. CES Med.*, vol. 32, n° 1, p. 12, 2018.
- [21] T. Ortiz, V. Ocampo, L. Prada, y M. Franco, «Métodos de conservación para actinobacterias con actividad solubilizadora de fósforo», *Rev. Colomb. Biotecnol.*, vol. 18, n° 2, p. 8, 2016, doi: 10.15446/rev.colomb.biote.v18n2.47683.
- [22] V. Reis, A. Bassi, J. Silva, y S. Ceccato, «Characteristics of *Saccharomyces cerevisiae* yeasts exhibiting rough colonies and pseudohyphal morphology with respect to alcoholic fermentation», *Braz. J. Microbiol.*, vol. 44, p. 11, 2013, doi: 10.1590/S1517-83822014005000020.
- [23] B. Tadesse, A. Abera, A. Tefera, D. Muleta, Z. Alemu, y G. Wessel, «Molecular Characterization of Fermenting Yeast Species from Fermented Teff Dough during Preparation of Injera Using ITS DNA Sequence», *Int. J. Food Sci.*, vol. 2019, p. 8, 2019, doi: 10.1155/2019/1291863.
- [24] V. L. Belini, H. Suhr, y P. Wiedemann, «Online monitoring of the morphology of an industrial sugarcane biofuel yeast strain via in situ microscopy», *J. Microbiol. Methods*, vol. 175, p. 105973, 2020, doi: <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2020.105973>.
- [25] S. Zurita, «Situación de la resistencia antifúngica de especies del género *Candida* en Perú», *Rev. Peru. Med. Exp. Salud Publica*, vol. 35, n° 1, p. 6, 2018, doi: 10.17843/rpmesp.2018.351.3563.

- [26]S. Zhang *et al.*, «The Isolation and Identification of Candida Glabrata from Avian Species and a Study of the Antibacterial Activities of Chinese Herbal Medicine In-Vitro», *Poult. Sci.*, p. 38, ene. 2021, doi: 10.1016/j.psj.2021.01.026.
- [27]E. Casalone, C. Barberio, L. Cappellini, y M. Polsinelli, «Characterization of *Saccharomyces cerevisiae* natural populations for pseudohyphal growth and colony morphology», *Res. Microbiol.*, vol. 156, n° 2, pp. 191-200, mar. 2005, doi: 10.1016/j.resmic.2004.09.008.
- [28]O. Indralaya, «Identification of Candida species by assimilation and Multiplex-PCR methods», *J. Chem. Technol. Metall.*, vol. 52, n° 6, p. 8, 2017.
- [29]U. Malik, A. Khan, y M. Satti, «Comparative evaluation of CHROMagar and API 20C AUX in isolation and identification of Candida species», *J. Islam. Int. Med. Coll.*, vol. 13, pp. 85-90, 2018.
- [30]J. González, L. Romero-Aguilar, G. Matus-Ortega, J. P. Pardo, A. Flores-Alanis, y C. Segal-Kischinevsky, «Levaduras adaptadas al frío: el tesoro biotecnológico de la Antártica», *TIP Rev. Espec. En Cienc. Quím.-Biológicas*, vol. 23, 2020, [En línea]. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-888X2020000100213&nrm=iso
- [31]C. Martínez, «Hongos microscópicos del néctar floral», Proyecto bibliográfico, Universidad de Sevilla, Sevilla, España, 2019. [En línea]. Disponible en: <https://hdl.handle.net/11441/92014>
- [32]P. Mateos, *Aislamiento y selección de microorganismos industriales*. 2000. [En línea]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/261983443_AISLAMIENTO_Y_SELECCION_DE_MICROORGANISMOS_INDUSTRIALES
- [33]D. Palmerín, L. Guevara, F. Villaseñor, y C. Pérez, «Identificación de una levadura para producción de proteína unicelular», *Rev Ing. Bioquímica Cienc. UAQ*, pp. 35-37, 2011.
- [34]T. Cortes, P. López, y J. Cuervo, *Criobiología: Criopreservación de microorganismos y de otras fuentes biológicas a bajas temperaturas*. 2016. [En línea]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/299560675_Criobiologia_Criopreservacion_de_microorganismos_y_de_otras_fuentes_biologicas_a_bajas_temperaturas
- [35]O. Ladino, J. David, y C. Chacin, «Evaluación de dos métodos de conservación de hongos filamentosos patógenos de palma de aceite», *Cent. Agríc.*, vol. 43, n° 2, pp. 36-41, 2016.
- [36]S. Huertas, M. Casas, M. Morales, Z. Moreno, y D. Castaño, «Implementación y evaluación de dos métodos de conservación y generación de la base de datos del banco de cepas y genes del Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional de Colombia (IBUN)», *Nova*, vol. 4, n° 5, p. 11, 2006, doi: 10.22490/24629448.346.
- [37]Y. Ocares y J. F. Castro, «Preservación de microorganismos por congelación», en *Boletín INIA*, I. de I. Agropecuarias, Ed. Santiago de Chile, 2020, p. 18. [En línea]. Disponible en: <https://biblioteca.inia.cl/handle/123456789/67167>
- [38]M. Guerra y J. Castro, «Evaluación de viabilidad de microorganismos», en *Boletín INIA*, I. de I. Agropecuarias, Ed. Santiago de Chile, 2020, p. 17. [En línea]. Disponible en: <https://biblioteca.inia.cl/handle/123456789/67168>