



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO**  
**FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y**  
**BIOTECNOLOGÍA**



**CARRERA DE INGENIERÍA BIOQUÍMICA**

---

Caracterización de levaduras aisladas a partir de frutos de durazno (*Prunus persica*),  
fresa (*Fragaria vesca*) y manzana (*Malus domestica*)”.

---

Trabajo de titulación, modalidad Proyecto de Investigación previa la obtención del  
Título de Ingeniero Bioquímico, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a  
través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología

Autor: Mercy Jeaneth Escobar Reyes

Tutor: Dr. Carlos Alberto Rodríguez Meza; PhD

Ambato-Ecuador

Julio-2019

## **APROBACIÓN DEL TUTOR**

Dr. Carlos Alberto Rodríguez Meza; PhD

### **CERTIFICA**

Que el presente trabajo de titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Trabajo de Titulación modalidad Proyecto de Investigación, el mismo que responde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad.

Ambato, 06 de mayo del 2019



---

Dr. Carlos Alberto Rodríguez Meza; PhD

180216650-2

**TUTOR**

## DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo Mercy Jeaneth Escobar Reyes, declaro que los resultados obtenidos en el presente Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniera Bioquímica son absolutamente originales, auténticos y personales; exceptuando las citas.



---

Mercy Jeaneth Escobar Reyes

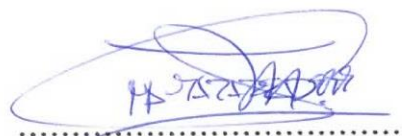
180477090-5

Autora

## APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos profesores Calificadores, aprueban el presente Trabajo de Titulación modalidad Proyecto de Investigación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Para constancia firman:



Presidente del tribunal



Dra. Mirari Yosune Arancibia Soria

C.I. 180214246-1



Lcdo. M.Sc. Paulo S. Baquero Icaza

C.I.180323354-1

Ambato, 24 de junio del 2019

## **DERECHOS DE AUTOR**

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Proyecto de Investigación o parte de él, un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación, según las normas de la institución.

Cedo los derechos en línea patrimoniales de mi Proyecto, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este Proyecto dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.



---

Mercy Jeaneth Escobar Reyes

180477090-5

Autora

## **DEDICATORIA**

*A mis padres Juan Escobar y Marcia Reyes por haberme dado la vida y ser incondicionales en todo este proceso de formación personal y académica. Sin ustedes nada de esto sería posible.*

*A mi abuelita Inés y mi tía Felisa por estar pendientes de mí y cuidarme desde niña.*

## AGRADECIMIENTO

*Agradezco a mis padres Juan y Marcia por estar siempre conmigo y por el apoyo que brindaron siempre, a ustedes papitos les debo todo lo que soy, los amo.*

*Al Doctor Carlos Rodríguez por haberme permitido ser parte de su grupo de investigación, por todo su apoyo, conocimientos y consejos que me ayudaron a crecer como persona y profesionalmente.*

*A la Universidad Técnica de Ambato y a la Facultad de Ciencia en Ingeniería en Alimentos, a la Unidad Operativa de Investigación y Desarrollo de la FCIAL (UODIDE-ICIA) por darme la oportunidad de formarme profesionalmente.*

*A Darwin Llumigusín por ser mi compañero y amigo desde primero a décimo semestre, por todos los momentos compartidos y tus consejos Darki siempre te estaré agradecida.*

*Al Ingeniero Gabriel Curipallo por su apoyo incondicional y por haber creído en mí durante todo este proceso de formación personal y profesional.*

*A mis compañeros y amigos tesistas del grupo de Investigación de Biotecnología Microbiana; Dianita, Belén, Dieguito, Estefanía gracias por compartir conocimientos y el apoyo mutuo brindado.*

*A la familia Bioseb Organics porque se convirtió en mi segundo hogar, de manera especial a la Ingeniera Gabriela Vinueza, Ingeniero Manuel Bravo, Cristito y Rosita por sus consejos a apoyo.*

*A mis amigos y compañeros con quien compartí momentos gratos dentro y fuera de las aulas Luis, Alex, Henry, Esteban, Majo. Y a esas personas que aparecieron en el camino que llegaron a ser muy importantes en mi vida Wilmer, César y Gabito.*

## ÍNDICE GENERAL

### *A. Páginas preliminares*

|                                        |      |
|----------------------------------------|------|
| APROBACIÓN DEL TUTOR.....              | ii   |
| DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD .....      | iii  |
| APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO ..... | iv   |
| DERECHOS DE AUTOR .....                | iv   |
| DEDICATORIA .....                      | vi   |
| AGRADECIMIENTO .....                   | vii  |
| ÍNDICE GENERAL.....                    | viii |
| ÍNDICE DE TABLAS .....                 | xi   |
| ÍNDICE DE FIGURAS.....                 | xiii |
| RESUMEN.....                           | xiv  |
| ABSTRACT.....                          | xv   |

### *B. Contenido*

|                                                                |   |
|----------------------------------------------------------------|---|
| CAPITULO I.....                                                | 1 |
| MARCO TEÓRICO.....                                             | 1 |
| 1.1    Generalidades .....                                     | 1 |
| Justificación .....                                            | 1 |
| 1.2    Antecedentes Investigativos .....                       | 2 |
| Generalidades de las levaduras .....                           | 2 |
| Características generales de levaduras.....                    | 3 |
| Características macroscópicas .....                            | 3 |
| Características microscópicas .....                            | 4 |
| Diversidad de las levaduras .....                              | 4 |
| Utilidad biotecnológica.....                                   | 5 |
| Producción de alimentos .....                                  | 5 |
| Producción de etanol .....                                     | 6 |
| Producción de metabolitos .....                                | 6 |
| Caracterización de levaduras .....                             | 7 |
| Pruebas taxonómicas .....                                      | 7 |
| Caracterización genotípica.....                                | 7 |
| Organización del material genético.....                        | 7 |
| Extracción de ADN genómico .....                               | 8 |
| Polimorfismos en la longitud de fragmentos de restricción..... | 8 |



|                                                                                    |           |
|------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Amplificación del ADN polimórfico .....                                            | 9         |
| Análisis de la región ITS del ADNr .....                                           | 9         |
| Análisis filogenético de levaduras .....                                           | 9         |
| 1.3 Objetivos .....                                                                | 10        |
| Objetivo general.....                                                              | 10        |
| Objetivos específicos .....                                                        | 10        |
| <b>CAPÍTULO II</b> .....                                                           | <b>11</b> |
| <b>METODOLOGÍA</b> .....                                                           | <b>11</b> |
| 2.1 Métodos .....                                                                  | 11        |
| Población y muestra.....                                                           | 11        |
| Procesamiento de las muestras .....                                                | 11        |
| Aislamiento selectivo de levaduras.....                                            | 12        |
| Purificación y almacenamiento.....                                                 | 12        |
| Caracterización macroscópica de levaduras .....                                    | 13        |
| Caracterización microscópica de los cultivos de levaduras.....                     | 13        |
| Pruebas fisiológicas de crecimiento.....                                           | 14        |
| Rango de crecimiento en función de la temperatura.....                             | 14        |
| Rango de crecimiento en función del pH.....                                        | 15        |
| Rango de crecimiento en función de la salinidad.....                               | 15        |
| Utilización de aminoácidos como única fuente de carbono y nitrógeno .....          | 16        |
| Utilización de aminoácidos como única fuente de carbono.....                       | 16        |
| Caracterización molecular de levaduras .....                                       | 17        |
| Extracción de ADN genómico de levaduras .....                                      | 17        |
| Determinación de la concentración e integridad de las bandas de ADN genómico ..... | 17        |
| Amplificación de la región ITS.....                                                | 17        |
| Digestión de la región ITS mediante RFLP .....                                     | 18        |
| 2.2 Procesamiento y análisis.....                                                  | 19        |
| Población de microorganismos .....                                                 | 19        |
| Taxonomía numérica de datos fenotípicos .....                                      | 19        |
| Análisis de datos moleculares.....                                                 | 20        |
| 2.3 Hipótesis .....                                                                | 20        |
| Hipótesis nula ( $H_0$ ).....                                                      | 20        |
| Hipótesis alternativa ( $H_1$ ).....                                               | 20        |
| Señalamiento de variables .....                                                    | 20        |
| <b>CAPÍTULO III</b> .....                                                          | <b>21</b> |
| <b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....                                                | <b>21</b> |
| 3.1.- Análisis y discusión de los resultados.....                                  | 21        |
| Determinación de la población de levaduras .....                                   | 21        |
| Purificación y almacenamiento.....                                                 | 23        |
| Caracterización macroscópica y microscópica de levaduras .....                     | 23        |
| Pruebas fisiológicas de crecimiento de las levaduras .....                         | 25        |

|                                                                            |    |
|----------------------------------------------------------------------------|----|
| Rango de crecimiento en función de la temperatura.....                     | 25 |
| Rango de crecimiento en función del pH.....                                | 25 |
| Rango de Crecimiento en función de la salinidad.....                       | 26 |
| Utilización de aminoácidos como única fuente de carbono y nitrógeno .....  | 26 |
| Utilización de aminoácidos como única fuente de carbono.....               | 27 |
| Análisis de taxonomía numérica de datos fenotípicos de las levaduras ..... | 28 |
| Discusión general.....                                                     | 38 |
| 3.2 Verificación de hipótesis .....                                        | 40 |
| CAPITULO IV.....                                                           | 41 |
| CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....                                        | 41 |
| 4.1 Conclusiones .....                                                     | 41 |
| 4.2 Recomendaciones.....                                                   | 41 |
| MATERIALES DE REFERENCIA .....                                             | 43 |
| Referencias Bibliográficas.....                                            | 43 |
| Anexos.....                                                                | 48 |

## ÍNDICE DE TABLAS

|                                                                                                                                  |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabla 1.</b> Datos del lugar de recolección .....                                                                             | 11 |
| <b>Tabla 2.</b> Descripción morfológica de colonias de levaduras .....                                                           | 13 |
| <b>Tabla 3.</b> Forma de las levaduras.....                                                                                      | 14 |
| <b>Tabla 4.</b> Clasificación de las cepas según el rango de crecimiento en función de la temperatura de incubación. ....        | 15 |
| <b>Tabla 5.</b> Clasificación de las cepas según el rango de crecimiento en función del pH del medio. ....                       | 15 |
| <b>Tabla 6.</b> Clasificación de las cepas según el rango de crecimiento en función de la concentración de NaCl en el medio..... | 16 |
| <b>Tabla 7.</b> Condiciones del termociclador Bio-rad para la amplificación de la región ITS .....                               | 18 |
| <b>Tabla 8.</b> Resultados obtenidos ufc/ml de muestra de fruta en cada lugar de recolección.....                                | 22 |
| <b>Tabla 9.</b> Resultados obtenidos de los ucf/ml de muestra de acuerdo al fruto.....                                           | 22 |
| <b>Tabla 10.</b> Resultados obtenidos de los ucf/ml de muestra de acuerdo al lugar .....                                         | 23 |
| <b>Tabla 11.</b> Caracterización macroscópica del aislamiento selectivo de levaduras.....                                        | 24 |
| <b>Tabla 12.</b> Caracterización microscópica del aislamiento selectivo de levaduras .....                                       | 24 |
| <b>Tabla 13.</b> Rango de crecimiento de las levaduras según la temperatura .....                                                | 26 |
| <b>Tabla 14.</b> Crecimiento de las levaduras en función del pH .....                                                            | 26 |
| <b>Tabla 15.</b> Crecimiento de las levaduras en función de la salinidad .....                                                   | 26 |
| <b>Tabla 16.</b> Crecimiento de las levaduras con la utilización de aminoácidos como única fuente de carbono y nitrógeno .....   | 27 |
| <b>Tabla 17.</b> Crecimiento de las levaduras con la utilización de aminoácidos como única fuente de carbono.....                | 18 |

|                                                                                                                                               |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabla 18.</b> Grupos especie formados luego del análisis de la taxonomía numérica de datos fenotípicos de las levaduras. ....              | 30 |
| <b>Tabla 19.</b> Grupos especie formados luego del análisis de la taxonomía numérica de datos fenotípicos y genotípicos de las levaduras..... | 52 |

## ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Dendograma obtenido a partir de datos fenotípicos con corte al 80% de similaridad mediante el coeficiente de similaridad ( $S_{SM}$ ) y el algoritmo UPGMA.....29
- Figura 2.** Dendograma obtenido a partir de bandas RFLP con la enzima de restricción Hha I mediante el coeficiente de similaridad ( $S_{SM}$ ) y el algoritmo UPGMA.....32
- Figura 3.** Dendograma obtenido a partir de bandas RFLP con la enzima de restricción Hae III mediante el coeficiente de similaridad ( $S_{SM}$ ) y el algoritmo UPGMA.....33
- Figura 4.** Dendograma obtenido a partir de bandas RFLP con la enzima de restricción Hinf I mediante el coeficiente de similaridad ( $S_{SM}$ ) y el algoritmo UPGMA.....34
- Figura 5.** Dendograma obtenido a partir de datos genotípicos con un corte al 80% mediante el coeficiente de similaridad ( $S_{SM}$ ) y el algoritmo UPGMA.....35
- Figura 6.** Dendograma obtenido a partir de datos fenotípicos genotípicos con un corte al 80% mediante el coeficiente de similaridad ( $S_{SM}$ ) y el algoritmo UPGMA.....26

## RESUMEN

El presente trabajo muestra la importancia de la caracterización fenotípica y genotípica para la identificación de levaduras que fueron aisladas de frutos de temporada (durazno, fresa y manzana) de tres localidades diferentes (Montalvo-Palagua, Huachi Grande-San Alfonso, Tisaleo-Alobamba). En la actualidad las levaduras han despertado un interés biotecnológico por su aplicación en la industria, debido a su rápido crecimiento y producción de biomasa. La fermentación de las frutas realizada antes del aislamiento permitió obtener diferencias en el número de ufc/ml de acuerdo al fruto y lugar de recolección. Se obtuvo un total de noventa y cuatro cepas aisladas y conservadas. Para la identificación de estas se tomó diferentes criterios como morfológicos donde se analizaron sus características macroscópicas y microscópicas, criterios fisiológicos de crecimiento en distintos rangos de pH, salinidad, temperatura y asimilación de aminoácidos como fuente de carbono y nitrógeno. La caracterización genotípica se la realizó mediante el análisis de la digestión de la región ITS por medio de RFLP, los resultados de taxonomía numérica obtenidos fueron analizados en el software estadístico NTSys lo que permitió obtener una determinación taxonómica con la que se pudo agrupar y formar dieciséis grupos especie resultantes del análisis de taxonomía numérica de datos fenotípicos y catorce grupos especie resultantes de la taxonomía numérica de datos genotípicos. El análisis final de taxonomía polifásica lo realizó para cincuenta y cuatro cepas de levaduras donde se agruparon sus características resultantes del análisis fenotípico y genotípico obteniendo un dendograma final con un corte al 80% de similaridad que permitió obtener 18 grupos especie donde se observa su amplia distribución para los frutos y lugares de donde fueron aisladas las levaduras.

**Palabras clave:** caracterización fenotípica, caracterización genotípica, distribución, ITS, taxonomía polifásica, taxonomía numérica.

## ABSTRACT

This paper shows the importance of the phenotypic and genotypic characterization for the identification of yeasts that were isolated from seasonal fruits peach, strawberry and apple from three different locations Montalvo-Palagua, Huachi Grande-San Alfonso, Alobamba – the triumph. The time, yeasts have generated a biotechnological interest due to their application in the industry, rapid growth and biomass production. The fermentation of the fruits made before the isolation allowed to obtain differences in the number of CFU/ml according to the fruit and place of collection. A total of ninety four isolated and conserved strains were obtained. For the identification of these was taken different criteria as morphological where analyzed their characteristics macroscopic and microscopic, physiological criteria of growth in different ranges of pH, salinity, temperature and assimilation of Amino acids as a source of carbon and nitrogen. The characterization genotypic was performed by analyzing the digestion of the region ITS by means of RFLP, the results of numerical taxonomy obtained were analyzed in the statistical software NTSys which allowed to obtain a taxonomic determination with which it was possible to group and form sixteen species groups resulting from the analysis of numerical taxonomy of phenotypic data and fourteen species groups resulting from the numerical taxonomy of genotypic data. The final analysis of taxonomy Polifásica made for fifty-four strains of yeast where they grouped their characteristics resulting from the analysis phenotypic and Genotypic obtaining a final dendogram with a cut to 80% of similarity that allowed Obtain 18 species groups where it is observed its wide distribution for the fruits and places of where they were isolated the yeasts.

**Key words:** phenotypic characterization, genotypic characterization, distribution, STI, polyphasic taxonomy, numerical taxonomy.

## CAPITULO I

### MARCO TEÓRICO

#### 1.1 Generalidades

##### Justificación

Las levaduras son hongos unicelulares con gran relevancia biotecnológica, producto de la gran capacidad para sintetizar una amplia gama de biomoléculas y también por la participación en varios procesos de transformación de materiales orgánicos (Steensels et al. 2014). Como los principales ejemplos de productos y procesos que representan a la gran diversidad metabólica de éste grupo de eucariotes, se pueden mencionar a los cofactores, extractos, producción de biomasa, producción de etanol y compuestos bioactivos para el control de hongos y bacterias (Tesfaw y Assefa 2014).

La diversidad de levaduras asociadas a hábitats aéreos de las plantas, presentes en hojas, flores y frutos, probablemente tienen un rol importante en la prevención de plagas y enfermedades (Wang, Sipilä y Overmyer 2016). Se ha demostrado que existen poblaciones de levaduras específicas en relación al órgano vegetal que ocupan (Ulloa et al. 2009). La determinación de la extensión de la diversidad biológica y metabólica de las levaduras que se desarrollan en tejidos vegetales podría representar nuevas fuentes de productos con potencial para su uso en biotecnología (Gaviria y Osorio, 2012).

Las levaduras se encuentran generalmente en hábitats terrestres. Sin embargo, muchas especies han sido aisladas de suelos asociados a especies arbustivas (Ulloa et al. 2009), y a partir de frutos y flores, como ha ocurrido en el mango y la naranjilla (Gaviria y Osorio 2012), bebidas fermentadas como vinos y chichas (López-Arboleda et al. 2010). El estudio de levaduras obtenidas de flora y fauna marina es relativamente nuevo, se han aislado levaduras halotolerantes que pueden ser utilizadas en la industria (Ochoa y Vázquez Juárez 2004). El cuerpo humano también puede albergar levaduras del género *Candida* que están asociados a afecciones en las mucosas y dermis (Mendoza, 2005). Las levaduras encontradas en los distintos hábitats hacen necesaria la identificación y clasificación de la diversidad de estos organismos.



Las diferentes características obtenidas a través de pruebas fenotípicas permiten agrupar poblaciones de acuerdo con la similitud de varios caracteres (Wang et al. 2015). El recurrir a pruebas genómicas ayuda a entender de mejor manera la distribución de una población microbiana y la identidad taxonómica de la cepa (Boundy-Mills 2012). La utilización de métodos de biología molecular como PCR – RFLP permiten estudiar la filogenia y la identificación molecular (Osorio Cadavid et al. 2009). La deducción evolutiva de una especie, usando herramientas moleculares garantiza una mayor confiabilidad para la identificación y posicionamiento filogenético de una especie de levadura (Vásquez, Castrillón y Monsalve 2016).

El presente trabajo de investigación está enfocado en la caracterización fenotípica y genotípica de levaduras asociadas a frutos, con el propósito de determinar la diversidad de frutos de temporada que se cultivan en habitas específicos. La relevancia del estudio de estas especies es debido a sus posibles aplicaciones biotecnológicas que por su fisiología y forma de reproducción son fáciles de cultivar, cosechar y escalar a nivel industrial y porque también podría demostrar la extensión de la biodiversidad de levaduras en Ecuador (Riley et al. 2016).

Con el aislamiento y conservación de las diversas colonias de levaduras se pretende fortalecer el banco de germoplasma con interés biotecnológico del grupo de investigación en Biotecnología Microbiana de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, y que sirva para la identificación de las levaduras con aplicaciones dentro del campo industrial, clínico y ambiental que permitan adaptarse a las necesidades que tiene el país, contribuyendo con este trabajo para investigaciones futuras que sirvan como una estrategia de producción más limpia y optimización de los recursos operativos previos a la obtención de productos biotecnológicos tales como, biocombustibles, alimentos y metabolitos secundarios.

## **1.2 Antecedentes Investigativos**

### **Generalidades de las levaduras**

Con la invención y desarrollo del microscopio se logró comprender la forma, estructura y fisiología de las levaduras. Todo esto gracias a las contribuciones de científicos como Cagniard, Kotzing, Schwann y Pasteur quienes independientemente

observaron como las levaduras participan en el proceso de fermentación de bebidas, además observaron la división mediante gemación (Alba y Segal 2010). En la actualidad se conoce que las levaduras son organismos eucariotes unicelulares, su desarrollo depende de factores abióticos como pH, humedad, temperatura, disponibilidad de azúcares y su distribución es amplia debido a la adaptación a diferentes hábitats, permitiendo formar comunidades de especies diversas (Medina, Cristancho y Uribe 2009).

Las levaduras en asociación con las plantas, generalmente se encuentran en la epidermis de los frutos, aunque pueden penetrar a tejidos internos, para aprovechar azúcares fermentables. A partir de estos se han identificado especies de levaduras tales como *Candida*, *Cryptococcus*, *Debaryomyces*, *Hanseniaspora*, *Pichia*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces* *Zygosaccharomyces*, algunos de estos microorganismos se han relacionado a daños en frutos, hojas, tallos y raíces de plantas (Vadkertiová et al. 2012).

### **Características generales de levaduras**

Las levaduras son principalmente hongos unicelulares que pertenecen al grupo de los ascomicetes o basidiomicetes. Se caracterizan por tener reproducción asexualmente sea esta por gemación o fisión binaria. Tienen estados sexuales que no están encerrados en cuerpos fructíferos (Sun, Wang y Heitman 2011). La reproducción asexual por plasmática de la célula, conocido como yema. Internamente se divide el núcleo con todo su material genético de manera longitudinal produciendo dos células hijas idénticas a la madre (Monroy Salazar et al. 2016).

### **Características macroscópicas**

La característica principal de las levaduras al desarrollarse en condiciones *in vitro* es la de poseer un olor dulce y agradable, las colonias con una textura variable pueden presentar características, mucoide, viscosa, butírica, friable o membranosa (Kurtzman, Fell, y Boekhout, 2011). La mayoría no desarrollan micelio aéreo pero en ocasiones se puede observar prolongaciones aracneiformes en los bordes de las colonias y pueden pertenecer a ciertas especies de levaduras que forman micelio verdadero como *Blastoschizomyces*, *Geotrichum*, o *Trichosporon* (Osumi 1998).

Otra característica importante es el color de las colonias de levaduras. La producción de pigmentos carotenoides como el naranja, rojo, amarillo, presentes en las colonias, son típicos en los géneros *Phaffia*, *Rhodospordium* y *Sporidiobolus* (Tesfaw y Assefa 2014). Sin embargo, la mayoría de las levaduras presentan un color blanco que varía hasta crema (Guamán-Burneo y Carvajal-Barriga 2009). La superficie de la colonia puede ser brillante, mate, lisa, áspera o hirsuta. Su elevación puede ser plana, deprimida en el centro, elevada con una cúpula o cónica. El margen varía entre entero, ondulado, lobulado o bordeado con hifas o pseudohifas (Kurtzman, Fell y Boekhout 2011).

### **Características microscópicas**

Los criterios microscópicos para la identificación de las levaduras son el tamaño, forma y estructura. Una levadura típica tiene una forma circular, esférica o elíptica con un tamaño que varía desde 2,5 a 10  $\mu\text{m}$  (Becze 1995). Bajo el microscopio también se puede identificar la presencia o ausencia de hifas, la presencia de pseudohifas indica que pertenece a alguna especie de género *Candida*, si presenta hifas verdaderas es posible que se trate de especies de *Blastoschizomyces*, *Galactomyces*, *Geotrichum* o *Trichosporon* (Vásquez, Castrillón y Monsalve 2016).

### **Diversidad de las levaduras**

Las levaduras son organismos que se desarrollan en ambientes dinámicos con variables ambientales, dichos factores han permitido la adaptación y la colonización de nichos ecológicos específicos, permitiendo evidenciar la diversidad y la especificidad que poseen estos microorganismos al tratar de desarrollarse en estos hábitats (Gaviria y Osorio 2012). Las levaduras que se encuentran en frutos han desarrollado mecanismos de protección frente a condiciones adversas como la resistencia a altas temperaturas, condiciones de osmolaridad y exposición a rayos uv (Trujillo y Hernández 2015). Son pocos los estudios de levaduras aisladas de frutos entre ellos, se puede destacar el estudio de López-Arboleda et al. (2010), quien identificó levaduras presentes en zumos de mora, piña y uva encontrando especies como *Candida boidinii* y *Wickerhamomyces pijperi* en mora y piña, mientras que en la uva predominó la especie *Candida azyma*. Se aislaron levaduras del género *Candida*, *Cryptococcus* y *Rhodotorula* del fruto de tomate de árbol (Almeida y Betancourt 2015). Cevallos (2014), demostró

que las especies *Candida sorbosivorans*, *Wickerhamomyces onichys*, *Meyerozyma guilliermondii* y *Clavispora lusitaniae* están presentes en frutos de mora de castilla de tres diferentes localidades, evidenciando la diversidad ecológica que poseen estos microorganismos al asociarse a la superficie de frutos.

### **Utilidad biotecnológica**

El interés biotecnológico radica en la adaptación de estos microorganismos a condiciones de laboratorio que permitan obtener resultados investigativos a corto, mediano y largo plazo. Los productos y subproductos obtenidos a partir de estas investigaciones permiten solucionar problemas de índole social, industrial y económico. En la actualidad el aporte biotecnológico que pueden brindar las levaduras ha desarrollado mecanismos que ayuda a describir las rutas metabólicas para la transformación de macromoléculas en moléculas simples y asimilables en procesos fermentativos (Daniels y Ramos 2009). Las levaduras participan en innumerables procesos para la obtención de productos como bebidas, alimentos, medicamentos, biocombustibles (Boundy-Mills 2012).

### **Producción de alimentos**

Las levaduras son utilizadas en fermentaciones tradicionales como producción de vino cerveza, vino sake (Bisson 2004). En la industria alimentaria se usa para elaborar enzimas, saborizantes, pigmentos, aminoácidos y ácidos orgánicos (Mata-Gómez et al. 2014). Están asociadas a procesos industriales alimenticios como por ejemplo la preparación de cacao que involucra levaduras pectinolíticas, la producción de carnes fermentadas, verduras y cereales que inicialmente son tratadas con bacterias ácido-lácticas, en donde las levaduras desempeñan un papel secundario en la maduración y desarrollo del sabor. Contribuyen con la rápida reducción del pH y la producción de compuestos antagonistas que evitan el crecimiento de patógenos como por ejemplo *Salmonella spp.*, *Staphylococcus spp.* (Kurtzman, Fell y Boekhout 2011).

Otra aplicación importante dentro la industria alimenticia es la producción de xilitol a partir de levaduras del género *Debaryomyces*, *Hansenula*, *Kluyveromyces*, *Pachysolen*, *Pichia*, *Saccharomyces*. Estas levaduras son conocidas por su capacidad de transformar la xilosa a xilitol, un edulcorante con bajo contenido calórico (Kogje y

Ghosalkar 2016). La obtención de este edulcorante contribuye a una producción más limpia al no generar productos tóxicos debido a su naturaleza específica (Córdoba, Pérez y Villadiego 2004).

### **Producción de etanol**

Debido a las características que presentan ciertas cepas de levaduras como las del género *Pichia*, *Saccharomyces* y *Torula* que son tolerantes a altas cantidades de etanol (González-Leos et al. 2017), han despertado el interés de los investigadores para estudiarlas ya que son capaces de utilizar residuos agrícolas que contengan azúcar, celulosa o almidón como fuente de carbono para su desarrollo. La utilización de estos organismos mejora la cinética de fermentación, el rendimiento del producto y la robustez celular en las condiciones de proceso (Jansen et al. 2017). Otro aspecto importante para este proceso es que se requieren organismos termotolerantes, que se desarrollen en rangos de temperatura que oscilan entre 37-45 °C. Investigaciones realizadas por Koedrith et al. (2008), permitieron obtener una cepa de levadura de banano, capaz de soportar temperaturas de 41- 42 °C, dicho aislamiento demostró adaptabilidad a niveles altos de salinidad y condiciones estresantes.

### **Producción de metabolitos**

Las levaduras del género *Candida* y *Rhodotorula* han presentado actividad antifúngica contra hongos fitopatógenos. Los estudios realizados frente a *Botrytis cinerea*, demuestran la competencia por nutrientes, la producción de pigmentos difusibles y metabolitos con posibles compuestos antifúngicos, que actúan mediante la asociación de la levadura al hongo, evitando su crecimiento debido a la interacción antagónica sobre la superficie del micelio de este patógeno (Yang et al. 2015). *Vanrija albida*, aislada del suelo, mostró actividad antifúngica frente a *Pythium aphanidermatum* y *Verticillium dahliae* (Yurkov 2018).

Las especies de levaduras *Goffeauzyma gastrica*, *Holtermanniella takashiame*, *Papiliotrema laurentii*, *Piskurozyma cylindrica* aisladas del suelo, son capaces de sintetizar el ácido indol-3-acético (Yurkov 2018), que es una fitohormona necesaria para el desarrollo de las plantas (Vega-Celedón et al. 2016). Aportes significativos en estudios farmacéuticos como intermediarios químicos, biotecnología ambiental,

biorremediación y degradación de contaminantes son argumentos válidos para el aislamiento e identificación de levaduras (Peris et al. 2018).

## **Caracterización de levaduras**

### **Pruebas taxonómicas**

Este método utiliza variables del tipo cualitativas, toma valores de 0 y 1 donde cero significa que no hay patrones en común y uno significa patrones idénticos. Los caracteres taxonómicos son rasgos utilizados para la comparación y diferenciación de las especies, se dividen de acuerdo al nivel de organización biológica que hace referencia a características bioquímicas, morfológicas, moleculares (Padial et al. 2010).

La taxonomía de las levaduras se basa en aspectos como la morfología, fisiología, ecología y genética, los criterios para clasificarlas incluyen tamaños y formas de las células, estructuras de las paredes, modos de reproducción, asimilación de azúcares, crecimiento en distintos tipos de pH, temperatura, salinidad, su capacidad de utilizar diversos compuestos exógenos. Con el desarrollo de la biología molecular aspectos relativos a su ADN y ARN se han vuelto cada vez más populares (Kurtzman, Fell y Boekhout 2011), incluyendo estas características dentro de los criterios taxonómicos. La sistemática filogenética permite resolver las relaciones genealógicas entre especies y grupos biológicos. Un grupo polifilético se forma cuando se toma taxones, o grupos de estudio de ancestros distintos (Llanos et al. 2004).

### **Caracterización genotípica**

#### **Organización del material genético**

El tamaño del genoma de las levaduras es de aproximadamente 15 Mpb, que varía dependiendo de la especie, este tamaño es relativamente pequeño en comparación con otras especies. La organización del material genético es diferente con relación a las bacterias, por lo tanto, la expresión génica será diferente también, la maquinaria transcripcional y traduccional se encuentra envuelta en una membrana al igual que los eucariotes de este modo la levadura se usa como modelo para regulación de genes en organismos eucariotes superiores. Los genes de las levaduras están organizados en

cromosomas lineales que pueden separarse mediante electroforesis en gel de campo y visualizarse con bromuro de etidio (Kurtzman, Fell y Boekhout 2011).

### **Extracción de ADN genómico**

La pared celular de las levaduras está constituida principalmente por dos capas polisacáridos, una capa interna transparente que contiene  $\beta$ -glucanos, y sobre ellas se encuentran manoproteínas, además contiene quitinas en un menor porcentaje (Uscanga, Pacheco y Francios 2005). La pared de doble contorno que protege a las levaduras hace que la extracción de ADN resulte un trabajo laborioso que busca obtener una suficiente concentración y pureza de ADN en un menor tiempo y bajo costo (Osorio-Cadavid et al. 2009). Existen diversos protocolos para la extracción de ADN de levaduras como son métodos físicos, enzimáticos o una combinación de estos.

### **Polimorfismos en la longitud de fragmentos de restricción**

Los marcadores moleculares basados en polimorfismos de la secuencia de ADN conocidos como RFLPs, se basan en la identificación de los diferentes tamaños de fragmentos después de la digestión con secuencias de ADN específicas utilizando enzimas de restricción (Egert y Friedrich 2003). Las enzimas de restricción reconocen secuencias específicas generando fragmentos de longitudes definidas, que pueden observarse en geles de agarosa por la diferencia de su peso molecular (Botstein et al. 1980). Los métodos basados en la PCR son de utilidad para examinar relaciones genéticas en grupos de microorganismos con el fin de caracterizar cepas de levaduras en niveles más altos.

Los polimorfismos en la longitud de fragmentos de restricción se han utilizado para la identificación de especies de levadura de interés industrial, Granchi et al. (1999), realizó un estudio sobre la rápida detección y cuantificación de especies de levadura durante la fermentación de vino utilizando la técnica PCR-RFLP de la región ADN<sub>r</sub> ITS, de las 30 cepas de levaduras se identificaron especies como *Candida stellata*, *Issatchenkia terrícola*, *Kloeckera apiculata*, *Metschnikowia pulcherrima* *Saccharomyces cerevisiae*, que son de interés enológico, los fragmentos de restricción presentaron tamaños variables que fueron comparados con las secuencias disponibles en GenBank.

La técnica molecular PCR- RFLP permite obtener un enfoque investigativo sobre la diversidad de levaduras presentes en superficies de frutos. Dicha técnica es de gran utilidad ya que permite identificar, diferenciar y relacionar filogenéticamente especies de levaduras (Granchi et al. 1999).

### **Amplificación del ADN polimórfico**

Es una técnica de gran utilidad que amplifica los segmentos de ADN mediante PCR (Polymerase Chain Reaction), la reacción se produce en presencia de un cebador, la hibridación se da a una temperatura de 37 °C, generando como producto diversos fragmentos de distinto tamaño que son visualizados mediante electroforesis. El uso de esta técnica permite obtener “huellas digitales” que permiten distinguir características entre especies (Vásquez, Castrillón y Monsalve 2016).

### **Análisis de la región ITS del ADNr**

Las técnicas moleculares desarrolladas han ayudado a identificar de manera más rápida la variabilidad intraespecie. Dentro de las técnicas más utilizadas está el análisis de las regiones ribosomales 5.8S, 18S y 26S. El análisis de la región de ADNr ITS-5.8S se ha utilizado principalmente para identificar levaduras de interés industrial, para llevar a cabo la secuenciación del dominio se utiliza los primers ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') e ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (Korabecna 2007). La región ribosomal ITS-5.8S muestra un bajo polimorfismo intraespecífico, que no permite la delimitación entre cepas de una misma especie, la región ITS en cambio genera una región no codificadora que permite el reconocimiento a nivel interespecífico (Carvalho et al. 2005).

### **Análisis filogenético de levaduras**

Conocer las variaciones genéticas de las levaduras ha proporcionado información en términos de la taxonomía de género y especie, para el entendimiento de las relaciones filogenéticas entre los grupos taxonómicos que forman los microorganismos en su nicho ecológico específico, ayudando a comprender aspectos sobre su ecología, diversidad, importancia industrial y domesticación (Eldarov et al. 2018).



La técnica RFLP para términos de selección o identificación de la diversidad presente en un área geográfica específica es muy útil (Mendoza 2005). Zarzoso et al. (1999), identificó levaduras presentes en el vino utilizando la técnica de análisis RFLP de la región 5.85 ARNr con lo que concluyó que el método es fácil, rápido y reproducible en la mayoría de los casos, se obtuvo 132 especies de levaduras que se encontraban dentro de 25 géneros diferentes.

### **1.3 Objetivos**

#### **Objetivo general**

Determinar la diversidad de levaduras asociadas a frutos de durazno, fresa y manzana.

#### **Objetivos específicos**

Aislar en cultivo puro levaduras de frutos de durazno, fresa y manzana.

Caracterizar fenotípicamente las levaduras aisladas de frutos.

Caracterizar genotípicamente levaduras por medio de la técnica PCR –RFLP.

Determinar la diversidad de levaduras con la formación de grupos genéticos.

## CAPÍTULO II

### METODOLOGÍA

#### 2.1 Métodos

##### **Población y muestra**

Se recolectaron muestras representativas, por triplicado, de los frutos de temporada durazno, fresa y manzana, de tres localidades en Huachi Grande, Montalvo y Tisaleo (Tabla 1). Se seleccionaron frutos maduros, sin daño externo evidente y de tamaño normal en cada especie. Las muestras fueron colocadas en bolsas de papel, identificadas y transportadas al laboratorio de la Unidad Operativa de Investigación y Desarrollo de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos (UODIDE-ICIA) para su procesamiento.

**Tabla 1.** Datos del lugar de recolección

| <b>Fruto</b> | <b>Código de aislamiento</b> | <b>Lugar</b>                   | <b>Coordenadas</b>      |
|--------------|------------------------------|--------------------------------|-------------------------|
| Durazno      | D1                           | Montalvo-Palagua               | 1°20'29.0"S 78°38'01.0  |
|              | D2                           | Huachi Grande- San Alfonso     | 1°19'32.3"S 78°38'47.4" |
|              | D3                           | Tisaleo -Alobamba              | 1°19'58.6"S 78°38'32.3  |
| Fresa        | F1                           | Montalvo-Palagua               | 1°20'29.0"S 78°38'01.0  |
|              | F2                           | Huachi Grande- San Alfonso     | 1°19'32.3"S 78°38'47.4" |
|              | F3                           | Tisaleo -Caserío San Francisco | 1°20'59.6"S 78°40'13.1  |
| Manzana      | M1                           | Montalvo-Palagua               | 1°20'29.0"S 78°38'01.0  |
|              | M2                           | Huachi Grande- San Alfonso     | 1°19'32.3"S 78°38'47.4" |
|              | M3                           | Tisaleo -Alobamba              | 1°19'58.6"S 78°38'32.3  |

##### **Procesamiento de las muestras**

Una vez ingresadas las muestras al laboratorio, se procedió a realizar una desinfección superficial de los frutos. Primero se realizó un lavado con agua de llave estéril por un minuto, luego se colocaron en una solución de hipoclorito de sodio al 20% (v/v) por treinta segundos, posteriormente se lavaron con agua de llave estéril por un minuto, seguido de una solución de alcohol al 70% (v/v) por veinte segundos. Finalmente, los frutos fueron sumergidos en un vaso de precipitación con agua de llave estéril, por un minuto. Los frutos desinfectados fueron pesados y colocados en vasos de precipitación estériles, cubiertos con papel aluminio para dejarlos a temperatura ambiente en un

lugar fresco y seco por un periodo de quince días para permitir el proceso de fermentación.

### **Aislamiento selectivo de levaduras**

El aislamiento selectivo de levaduras se realizó a partir del mosto producido por la fermentación de los azúcares de cada fruto. A partir del mosto obtenido en cada una de las repeticiones por sitio de recolección, se tomaron 0,5 ml, los que fueron colocados en un blanco de dilución de 4,5 ml de agua de llave estéril (1/10). Diluciones seriadas fueron preparadas hasta alcanzar 1/10<sup>4</sup>. Usando la metodología de difusión en placa se inocularon 100 µl de cada una de las diluciones en platos de cultivo con medio yeast extract peptone dextrose (YPD) a una concentración de 39 g/l y ajustado a un pH de 6,5 y agar sabouraud a una concentración 65 g/l y un pH de 5,6, suplementado con sulfato de estreptomycin a una concentración de 50 µg/ml de medio de cultivo. Todos los medios de cultivo fueron ajustados a un pH de 5,6. Las cajas inoculadas se dejaron secar en la cámara de flujo laminar por 1 hora, y se incubaron a 25°C por tres días. Una vez transcurrido el tiempo de incubación se procedió a contar las colonias en aquellas diluciones en las que el rango entre 30 y 300 fue observado. En aquellas muestras en las que no crecieron al menos de 30 colonias se contaron aquellas que habían crecido. El cálculo de unidades formadoras de colonias (ufc/ml), se realizó mediante la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{ufc}}{\text{ml}} = \frac{\text{N} * \text{FD}}{\text{Vi}}$$

Dónde:

**N:** Número de colonias

**FD:** Dilución en la cual se contó las colonias

**Vi:** Volumen inoculado en mililitros

### **Purificación y almacenamiento de levaduras**











Los platos de cultivo que presentaron crecimiento visible y diversidad de levaduras se seleccionaron para el aislamiento y purificación de cepas. Se tomó una colonia con la ayuda de un asa de transferencia estéril, y se realizó una estría compuesta en cajas

monopetri con Potato Dextrose Agar (PDA) a una concentración de 39 g/l y ajustado a un pH 5,6. Los platos fueron incubados por tres días a 25°C. Los cultivos puros, se codificaron y almacenaron en tubos crioviales, en una solución de glicerol al 20% (v/v), a -20 °C, para su conservación a largo plazo. Además, se realizaron suspensiones de células en agua de llave estéril para usarlas en pruebas fenotípicas posteriores, las que fueron conservadas en refrigeración a 4°C.

### Caracterización macroscópica de levaduras

Los cultivos puros obtenidos se agruparon de acuerdo con la morfología y coloración de las colonias, ésta última se realizó con la ayuda de la tabla de colores del British Standard Specification for colours (Tabla A1, Anexo A). Las características generales de las colonias fueron descritas de acuerdo con la Tabla 2.

**Tabla 2.** Descripción morfológica de colonias de levaduras

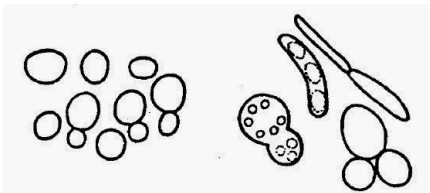
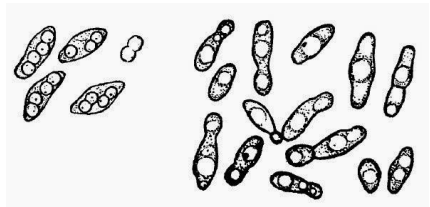
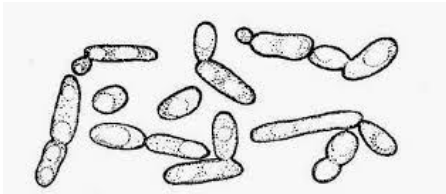
| Característica | Gráfico                                                                             |                                                                                       |                                                                                       |                                                                                       |
|----------------|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| Margen         |  |   |  |                                                                                       |
|                | Entero                                                                              | Ondulado                                                                              | Rizoide                                                                               |                                                                                       |
| Elevación      |  |  |  |                                                                                       |
|                | Plana                                                                               | Convexa                                                                               | Umbilicada                                                                            |                                                                                       |
| Superficie     |  |   |  |  |
|                | Lisa                                                                                | Rugosa                                                                                | Plegada                                                                               | Filamentosa                                                                           |
| Brillo         | Brillante, opaca                                                                    |                                                                                       |                                                                                       |                                                                                       |
| Textura        | Mucosa, butirosa, friable                                                           |                                                                                       |                                                                                       |                                                                                       |

### Caracterización microscópica de los cultivos de levaduras

Las colonias puras fueron utilizadas para preparar muestras que se observaron bajo el microscopio (Evos FL), con el fin de determinar la forma y tamaño de la célula de cada una de las levaduras. Para ello, se colocó una gota de agua en un portaobjetos limpio

y se tomó una pequeña muestra de la colonia con ayuda de un asa de transferencia estéril. Finalmente se colocó cuidadosamente el cubreobjetos procurando no formar burbujas y se procedió a observar en el microscopio usando los lentes objetivos de 40X y 100X. La morfología de las células de levaduras fue determinada de acuerdo con las características que se muestran en la Tabla 3.

**Tabla 3.** Forma de las levaduras

| Forma      | Gráfico                                                                              |
|------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| Circular   |    |
| Ovalada    |   |
| Cilíndrica |  |

(Barnett, 2004)

### Pruebas fisiológicas de crecimiento

#### Rango de crecimiento en función de la temperatura

Se inocularon 5  $\mu$ l de las suspensiones de células de agua de llave estéril en una caja monopetri con medio PDA. Luego se incubaron a 4, 10, 37 y 50 °C durante 48 – 72 horas, transcurrido este tiempo se evaluó el crecimiento, mediante código binario. Si presentó crecimiento se colocó 1, caso contrario 0. La clasificación de las levaduras se realizó en base a la información que se muestra en la Tabla 4.

**Tabla 4.** Clasificación de las cepas según el rango de crecimiento en función de la temperatura de incubación.

| Temperatura de incubación °C |    |    |    | Clasificación    |
|------------------------------|----|----|----|------------------|
| 4                            | 26 | 37 | 50 |                  |
| +                            | +  | +  | +  | Mesófilo extremo |
| +                            | +  | +  | -  | Mesófilo         |
| +                            | +  | -  | -  | Psicrótrofo      |
| +                            | -  | -  | -  | Psicrófilo       |

### Rango de crecimiento en función del pH

Se colocaron 5 µl de las suspensiones de células de agua de llave estéril en una caja monopetri con medio PDA, ajustando el pH de este a valores de 3.5, 4.5, 5.5, 6.5, 7.5 y 8.5 mediante sistema de buffers (Tabla B1 y B2, Anexo B). Las cajas se incubaron a 25 °C durante 48-72 horas, transcurrido este tiempo se evaluó el crecimiento, mediante código binario. Si presentó crecimiento se colocó 1, caso contrario se colocó 0. La clasificación de las levaduras se realizó en base a la información de la Tabla 5.

**Tabla 5.** Clasificación de las cepas según el rango de crecimiento en función del pH del medio.

| pH del medio |     |     |     |     |     |     | Clasificación   |
|--------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----------------|
| 3.5          | 4.5 | 5.5 | 6.5 | 7.5 | 8.5 | 9.5 |                 |
| +            | +   | +   | -   | -   | -   | -   | Acidófilo       |
| +            | +   | +   | +   | -   | -   | -   | Neutrotolerante |
| +            | +   | +   | +   | +   | -   | -   | Neutrotolerante |
| -            | -   | +   | +   | +   | -   | -   | Neutrófilo      |
| -            | -   | -   | +   | +   | -   | -   | Neutrófilo      |
| -            | -   | -   | +   | -   | -   | -   | Neutrófilo      |
| -            | -   | +   | +   | +   | +   | +   | Alcalitolerante |
| -            | -   | -   | +   | +   | +   | +   | Alcalitolerante |
| -            | -   | -   | -   | +   | +   | +   | Alcalófilo      |

### Rango de crecimiento en función de la salinidad

Se inocularon 5 µl de las suspensiones de células conservadas en agua de llave estéril en una caja con medio PDA con 0, 1, 5, 10 y 15% de NaCl (p/v), las cajas se incubaron a 25°C durante 48-72 horas. Transcurrido este tiempo se evaluó la presencia de

crecimiento, mediante código binario. Si presentó crecimiento se colocó 1, caso contrario se colocó 0. La clasificación de las levaduras se realizó en base a la información de la Tabla 6.

**Tabla 6.** Clasificación de las cepas según el rango de crecimiento en función de la concentración de NaCl en el medio.

| Salinidad del medio del cultivo NaCl (%) |   |    | Clasificación       |
|------------------------------------------|---|----|---------------------|
| 1                                        | 5 | 10 |                     |
| +                                        | - | -  | Halófilo débil      |
| +                                        | + | -  | Halófilo            |
| +                                        | + | +  | Halófilo<br>Extremo |

### **Utilización de aminoácidos como única fuente de carbono y nitrógeno**

Se determinó la capacidad de las levaduras para utilizar distintos aminoácidos como única fuente de carbono y nitrógeno. Se utilizaron los aminoácidos ácido aspártico, ácido glutámico, alanina, arginina, asparagina, cisteína, fenilalanina, histidina, leucina, lisina, tirosina, treonina y valina. Para la preparación del medio de cultivo se utilizó un medio basal (Tabla B3, Anexo B). Sobre la superficie del medio se inocularon 5 µl de las suspensiones de células conservadas en agua de llave estéril. Las cajas se incubaron durante siete días a 25 °C. Trascurrido este tiempo se evaluó la presencia de crecimiento, mediante código binario. Si presentó crecimiento se colocó 1, caso contrario se colocó 0.

### **Utilización de aminoácidos como única fuente de carbono**

Se determinó la capacidad de las levaduras para utilizar distintos aminoácidos como única fuente de carbono. Se utilizaron los aminoácidos ácido aspártico, ácido glutámico, alanina, arginina, asparagina, cisteína, fenilalanina, histidina, leucina, lisina, tirosina, treonina y valina. Para la preparación del medio de cultivo se utilizó un medio básico (Tabla B4, Anexo B). Sobre la superficie del medio se inocularon 5 µl de las suspensiones de células conservadas en agua de llave estéril. Las cajas se incubaron durante siete días a 25 °C. Trascurrido este tiempo se evaluó la presencia de crecimiento, mediante código binario. Si presentó crecimiento se colocó 1, caso contrario se colocó 0.

## **Caracterización molecular de levaduras**

### **Extracción de ADN genómico de levaduras**

Para la extracción de ADN genómico, los cultivos de levaduras se dejaron crecer durante 48 horas en agar PDA. En tubos de centrifugación estériles de 1.5 ml, se colocaron 0.4 gramos de perlas de vidrio de 425-600  $\mu\text{m}$  de diámetro y 500  $\mu\text{l}$  de buffer de lisis (Tabla B5, Anexo B). Con la ayuda de un asa de transferencia, se colocó una cantidad suficiente de biomasa en el tubo de centrifugación. Se vortizó por tres minutos a máxima velocidad y se incubó a 65°C, durante sesenta minutos. Transcurrido ese tiempo los tubos se centrifugaron a 8500 rpm (microcentrífuga Eppendorf) por treinta minutos, del sobrenadante obtenido se transfirieron 300  $\mu\text{l}$  en tubos de centrifugación estériles. El ADN genómico se mantuvo en congelación a -20°C.

### **Determinación de la concentración e integridad de las bandas de ADN genómico**

Para determinar la concentración del ADN genómico se utilizó el espectrofotómetro UV-Vis Nanodrop 2000 (Thermo Fisher). Luego de la calibración del equipo, se procedió a medir la concentración del ADN genómico extraído (ng/ $\mu\text{l}$ ), para lo cual se colocaron 1,5  $\mu\text{l}$  de muestra. Con el fin de verificar la integridad y calidad del ADN genómico, se preparó un gel de agarosa al 1% el que se tiñó con Syber safe 10000X (Invitrogen), se tomaron 4  $\mu\text{l}$  de ADN genómico y se mezcló con 0,4  $\mu\text{l}$  de loading dye (Invitrogen). Luego se realizó la electroforesis a 100 V durante treinta y cinco minutos. Para poder visualizar las bandas de ADN genómico se utilizó el fotodocumentador ChemiDoc (Bio-rad). La presencia de una banda visible en la parte superior del gel significó que el ADN genómico se encontraba íntegro. Bandas tenues y/o la presencia de un barrido en la línea de electroforesis indicó que el ADN se encontraba demasiado fragmentado.

### **Amplificación de la región ITS**

Para la amplificación de la región ITS del total de noventa y cuatro aislados fueron seleccionadas sesenta muestras, esto se realizó basándose en el Dendograma



construido a partir de la taxonomía numérica de las pruebas fenotípicas realizadas previamente.

La región ITS fue amplificada mediante la técnica de PCR, utilizando los primers ITS1 (5' –TCC GTA GGT GAA CCT GCG G- 3') e ITS4 (5' –TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC- 3'), para ello se realizaron diluciones del ADN genómico hasta obtener una concentración entre 30-50 ng/μl, medido en el nanodrop (Thermofisher). Para la amplificación de la región ITS se añadió aproximadamente 2,5 μl del ADN genómico, junto con 45 μl de PCR SuperMix (Invitrogen) que contenía Mg<sup>++</sup>, dNTPs y Taq polimerasa, luego se añadieron 1,5 μl de los primers ITS1 e ITS4, los que habían sido preparados a una concentración de 20 μM. El volumen final de la reacción de PCR fue de 50,5 μl. Para garantizar la correcta homogenización de los ingredientes en el tubo, se procedió a vortear y centrifugar por cinco segundos cada una de las muestras. La amplificación fue realizada en un termociclador T100 (Bio-rad), con las condiciones que se muestran en la Tabla 6. El producto obtenido se analizó mediante electroforesis de gel de agarosa al 1% teñido con Syber safe. Junto con 4 ul de cada muestra, se colocaron 2 μl del marcador de peso molecular de 1 Kb, La electroforesis se realizó a 100 V durante treinta y cinco minutos. Las bandas obtenidas se visualizaron y se interpretaron utilizando el fotodocumentador ChemiDoc (Bio-rad).

**Tabla 7.** Condiciones del termociclador Bio-rad para la amplificación de la región ITS

| Fases                     | Temperatura (°C) | Tiempo (min) | N° ciclos |
|---------------------------|------------------|--------------|-----------|
| Desnaturalización inicial | 94               | 5            | 1         |
| Desnaturalización         | 94               | 1            | 40        |
| Annealing                 | 55               | 2            | 40        |
| Extensión                 | 72               | 2            | 40        |
| Extensión final           | 72               | 10           | 1         |

### **Digestión de la región ITS mediante RFLP**

Una vez que se identificó positivamente la amplificación del fragmento de la ITS, se realizó el proceso de digestión, usando las siguientes enzimas de restricción, HhaI (5' – 3' GCG CC), Hae III (5' GG CC) y Hinf I (5' GANT C). Para ello se prepararon tres

tubos de centrifugación que contenían 10  $\mu$ l del producto amplificado por PCR-ITS, más 2,2  $\mu$ l de agua libre de endonucleasas, 2  $\mu$ l del buffer y 0,8  $\mu$ l de cada enzima de restricción, dando un volumen final de 15  $\mu$ l. Los tubos de plástico fueron vortezados y centrifugados por cinco segundos con el propósito de homogenizar la muestra, luego se incubaron en un termobloque a una temperatura constante de 37 °C por ocho horas, transcurrido ese tiempo, el producto que se obtuvo fue analizado mediante electroforesis en un gel de agarosa al 1,28% que se tiñó con Syber safe, en el gel se colocaron 4  $\mu$ l del marcador de peso molecular de 100 bp, seguidamente se añadieron 15  $\mu$ l del producto de la digestión previamente mezclado con 1,5  $\mu$ l de loading dye. La electroforesis se realizó a 70 V por dos horas y media. Las bandas obtenidas se visualizaron y se interpretaron utilizando el fotodocumentador ChemiDoc (Bio-rad). (Anexo D)

## **2.2 Procesamiento y análisis**

### **Población de microorganismos**

Con el total de colonias aisladas se determinó el número de ufc/ml de muestra, el propósito fue comparar la cantidad de levaduras existente en los mostos producidos durante la fermentación de cada fruto.

### **Taxonomía numérica de datos fenotípicos**

Los resultados que se obtuvieron a partir de la realización de pruebas fenotípicas se utilizaron para construir una base de datos en código binario, con el número de pruebas o características estudiadas. La información tabulada se procesó en el software estadístico NTSys, el cual permitió calcular el porcentaje de similitud entre las levaduras estudiadas por medio del coeficiente de simple coincidencia ( $S_{SM}$ ). Los porcentajes obtenidos fueron utilizados como información para construir el dendrograma mediante el uso de algoritmo UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) del programa. Con la obtención del gráfico, se identificó los grupos especie con un coeficiente de similitud mayor al 90%. Además, se identificó el número, distribución y diversidad de individuos presentes en cada fruto que fue recolectado de distintas localidades.

## **Análisis de datos moleculares**

Las imágenes en formato tiff obtenidas a partir de la utilización de las enzimas de restricción HhaI, Hae III y Hinf I, fueron analizadas con el software GelJ. Para esto primero se identificó el sitio de restricción de cada enzima, comparándola con el marcador de peso molecular que va de 100 a 2000 pares de bases. El porcentaje de similitud se calculó, mediante el coeficiente de Pearson y el dendrograma se construyó a partir del algoritmo UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) del programa. Con la obtención del gráfico, se identificaron los grupos especie con un coeficiente de similitud de 80%, además se identificaron el número, distribución y diversidad de individuos presentes en cada fruto recolectado de distintas localidades.

### **2.3 Hipótesis**

#### **Hipótesis nula ( $H_0$ )**

No existe diversidad entre las levaduras aisladas de frutos de durazno, fresa y manzana en base a sus características fenotípicas y genotípicas.

#### **Hipótesis alternativa ( $H_1$ )**

Existe al menos cinco grupos especie diferentes entre las levaduras aisladas de frutos de durazno, fresa y manzana en base a sus características fenotípicas y genotípicas.

#### **Señalamiento de variables**

Aislamiento y conservación de las levaduras.

Pruebas fisiológicas de crecimiento de temperatura, pH, salinidad.

Utilización de aminoácidos como única fuente de carbono y nitrógeno.

Utilización de aminoácidos como única fuente de carbono.

Amplificación de la región ITS.

Digestión de la región ITS.

## CAPÍTULO III

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1.- Análisis y discusión de los resultados

##### **Determinación de la población de levaduras**

La Tabla 8 muestra los resultados del número de unidades formadoras de colonias por ml de muestra (ufc/ml). El mayor número de ufc/ml se obtuvo en el tratamiento D3 (durazno, Tisaleo-Caserío San Francisco), en el medio YPD, con  $4,70 \times 10^7$  ufc/ml. El menor número se calculó en el tratamiento D1 (durazno, Montalvo-Palagua) en medio YPD, con  $6,10 \times 10^5$  ufc/ml. En los tratamientos F2 (fresa, Huachi Grande-San Alfonso), M1 (manzana, Montalvo-Palagua) y M2 (manzana, Huachi Grande- San Alfonso) no presentaron crecimiento colonias de levaduras en ninguno de los dos medios de aislamiento, mientras que en los tratamientos F1 (fresa Montalvo- Palagua) y F3 (fresa, Tisaleo-Caserío San Francisco), las levaduras crecieron solamente en el medio YPD. En el medio Sabouraud el crecimiento de hongos filamentosos dificultó la identificación de levaduras por lo que no se pudo obtener el número de ufc de estas muestras. Estudios realizados en fruta fresca mostraron que en manzana se obtuvieron  $2,40 \times 10^2$  ufc/ml y para durazno  $1,03 \times 10^4$  ufc/ml (Ávila Quezada et al., 2008). Los valores de unidades formadoras de colonias por ml que fueron determinados en esta investigación son muy superiores demostrando la ventaja de usar frutas fermentadas vs. fruta fresca. A partir de manzanas fermentadas se obtuvieron más de 10000 veces el número de ufc/ml, mientras que, en duraznos fermentados, el valor de ufc/ml fue, en promedio, 100 veces mayortabala que el obtenido en fruta fresca.

**Tabla 8.** Resultados obtenidos ufc/ml de muestra de fruto en cada lugar de recolección

| Tratamiento | Lugar                          | ufc/ml                  |                      |
|-------------|--------------------------------|-------------------------|----------------------|
|             |                                | YPD                     | Sabouraud            |
| <b>D1</b>   | Montalvo -Palagua              | 6,10x10 <sup>5</sup>    | 7,00x10 <sup>5</sup> |
| <b>D2</b>   | Huachi Grande- San Alfonso     | 2,80x10 <sup>7</sup>    | 2,90x10 <sup>7</sup> |
| <b>D3</b>   | Tisaleo -Alobamba              | 4,70x10 <sup>7</sup>    | 3,30x10 <sup>7</sup> |
| <b>F1</b>   | Montalvo-Palagua               | 1,11Ex10 <sup>7</sup>   | *                    |
| <b>F2</b>   | Huachi Grande- San Alfonso     | No presenta crecimiento |                      |
| <b>F3</b>   | Tisaleo -Caserío San Francisco | 1,44x10 <sup>6</sup>    | *                    |
| <b>M1</b>   | Montalvo-Palagua               | No presenta crecimiento |                      |
| <b>M2</b>   | Huachi Grande- San Alfonso     | No presenta crecimiento |                      |
| <b>M3</b>   | Tisaleo -Alobamba              | 6,60x10 <sup>6</sup>    | 8,50x10 <sup>6</sup> |

\*Platos de cultivo que presentan contaminación

La Tabla 9 muestra el número promedio de ufc/ml de muestra por cada tipo de fruto. El durazno se ubica en primer lugar con el mayor número de ufc/ml con un valor de 2,31x10<sup>7</sup>, seguido de manzana con 7,55x10<sup>6</sup> y finalmente fresa con 6,26x10<sup>6</sup>. Las diferencias presentadas pueden deberse al estado de madurez, textura y al contenido y tipo de azúcares presentes en las frutas.

**Tabla 9.** Resultados obtenidos de los ucf/ml de muestra de acuerdo al fruto

| Fruto          | ufc/ml                |
|----------------|-----------------------|
| <b>Durazno</b> | 2,31Ex10 <sup>7</sup> |
| <b>Manzana</b> | 7,55Ex10 <sup>6</sup> |
| <b>Fresa</b>   | 6,26Ex10 <sup>6</sup> |

El promedio de los resultados obtenidos de ufc/ml de muestra de acuerdo al medio de aislamiento no presentan una variación numérica significativa: En el medio sabouraud se obtuvo un promedio de 1,78x10<sup>7</sup> mientras que en el medio YPD el promedio fue de 1,58x10<sup>7</sup> en relación a ufc/ml, por lo que se concluye que el medio no influye en la determinación del número de microorganismos que crecieron a partir de las diferentes muestras.

Las poblaciones de levaduras que se obtuvieron en esta investigación fueron abundantes, demostrando que la fermentación de la fruta, previo al establecimiento de los experimentos de aislamiento selectivo, es una etapa que se debería seguir cuando

se quiera analizar poblaciones de levaduras presentes en otros frutos, y de esa manera, probablemente tener una mejor idea de la diversidad de levaduras presentes en frutos. El tener un criterio de valoración del estado fermentativo del mosto probablemente permitió crecer una mayor cantidad de microorganismos. Con la diferencia de los datos obtenidos de ufc/ml de muestra de acuerdo cada tipo fruta se evidencia que existe una mayor cantidad de levaduras que se pudo obtener del fruto durazno seguido de manzana y fresa que probablemente se debe al medio en que se desarrolla el fruto.

### **Purificación y almacenamiento de levaduras**

Noventa y cuatro levaduras fueron aisladas y purificadas a partir de los platos de aislamiento de los tres frutos de temporada. Los detalles de la codificación y origen de cada aislamiento, por fruto y lugar de recolección se muestran en la (Tabla C1, Anexo C). Dichos aislamientos fueron realizados bajo términos de diversidad, siendo el fruto de durazno el que mayor diversidad brindó con cuarenta y cuatro representantes, seguido de fresa con treinta y cuatro y manzana con dieciséis representantes.

### **Caracterización macroscópica y microscópica de levaduras**

La Tabla 10 muestra los resultados de la caracterización macroscópica de las noventa y cuatro levaduras aisladas durante la investigación. Basado en parámetros macroscópicos se pudo describir que sesenta y seis muestras poseen un margen entero, cuarenta y cinco elevación plana, cincuenta y ocho superficie lisa, cincuenta y cinco brillo opaco y noventa colonias una textura butirosa. La tabla 11 muestra la coloración de las colonias de levaduras donde, donde el mayor porcentaje de la población presentó color white. La Tabla 12 muestra los resultados de la caracterización microscópica de las levaduras, se observa que cuarenta y cuatro levaduras son ovaladas, treinta y tres son circulares y diecisiete son cilíndricas. Dichas características macroscópicas y microscópicas permitieron seleccionar la mayor diversidad de levaduras aisladas de frutos de temporada.

**Tabla 10.** Caracterización macroscópica del aislamiento selectivo de levaduras

| <b>Parámetros</b> | <b>Características</b> | <b>N° de muestras</b> | <b>Porcentaje (%)</b> |
|-------------------|------------------------|-----------------------|-----------------------|
| <b>Margen</b>     | Entero                 | 66                    | 70,21                 |
|                   | Ondulado               | 22                    | 23,40                 |
|                   | Rizoide                | 6                     | 6,38                  |
| <b>Elevación</b>  | Plana                  | 45                    | 47,87                 |
|                   | Convexa                | 37                    | 39,36                 |
|                   | Umbilicada             | 12                    | 12,77                 |
| <b>Superficie</b> | Lisa                   | 58                    | 61,70                 |
|                   | Rugosa                 | 31                    | 32,98                 |
|                   | Plegada                | 4                     | 4,26                  |
|                   | Filamentosa            | 1                     | 1,06                  |
| <b>Brillo</b>     | Opaca                  | 55                    | 58,51                 |
|                   | Brillante              | 39                    | 41,49                 |
| <b>Textura</b>    | Butirosa               | 90                    | 95,74                 |
|                   | Friable                | 3                     | 3,19                  |
|                   | Mucosa                 | 1                     | 1,06                  |

**Tabla 11.** Color de las colonias levaduras

| <b>Color</b>    | <b>N° Cepas</b> | <b>Porcentaje (%)</b> |
|-----------------|-----------------|-----------------------|
| white           | 32              | 34,04                 |
| 388 beige       | 18              | 19,15                 |
| 367 manilla     | 16              | 17,02                 |
| 361 light stone | 13              | 13,83                 |
| 365 vellum      | 10              | 10,64                 |
| 369 biscuit     | 4               | 4,26                  |
| 358 light buff  | 1               | 1,06                  |

**Tabla 12.** Caracterización microscópica del aislamiento selectivo de levaduras

| <b>Parámetro</b> | <b>Característica</b> | <b>N° muestras</b> | <b>Porcentaje (%)</b> |
|------------------|-----------------------|--------------------|-----------------------|
| <b>Forma</b>     | Ovalada               | 44                 | 46,81                 |
|                  | Circular              | 33                 | 35,10                 |
|                  | Cilíndrica            | 17                 | 18,09                 |

## Pruebas fisiológicas de crecimiento de las levaduras

### Rango de crecimiento en función de la temperatura

La Tabla 13 muestra los resultados obtenidos de crecimiento en función de distintos rangos de temperatura, así se obtuvo que veinte y nueve cepas crecen en un rango de temperatura de 4 a 50 °C ubicándolos dentro del grupo de mesófilos extremos. Sesenta y cuatro cepas crecen a una temperatura máxima de 37 °C y se colocan dentro del grupo de los mesófilos. mientras que solo una cepa se ubica dentro del grupo de los psicrótrofos ya que crecen en un rango de temperatura que va de 4 a 26 °C. Finalmente no se obtuvo crecimiento de cepas que se adapten a una temperatura de 4 °C conocidos como psicrófilos.

**Tabla 13.** Rango de crecimiento de las levaduras según la temperatura

| <b>Clasificación</b> | <b>N° Cepas</b> |
|----------------------|-----------------|
| Mesófilo extremo     | 29              |
| Mesófilo             | 64              |
| Psicrótrofo          | 1               |
| Psicrófilo           | 0               |

### Rango de crecimiento en función del pH

En la Tabla 14 se observa el número de individuos distribuidos en cada uno de los rangos de pH establecidos, se obtuvo así, los siguientes resultados. En el grupo denominado acidófilos crecieron treinta colonias, en el grupo neutrotolerantes se desarrollaron cincuenta y seis colonias. En el grupo de los alcalitolerantes crecieron ocho colonias. Finalmente, el grupo alcalófilo no se evidenció crecimiento de microorganismos.

**Tabla 14.** Crecimiento de las levaduras en función del pH

| <b>Clasificación</b> | <b>N° Cepas</b> |
|----------------------|-----------------|
| Acidófilo            | 30              |
| Neutrotolerante      | 56              |
| Alcalitolerante      | 8               |
| Alcalófilo           | 0               |



### **Rango de Crecimiento en función de la salinidad**

La Tabla 15 muestra los resultados obtenidos del crecimiento de las levaduras en función de distintas concentraciones de salinidad, se obtuvo así, que doce levaduras pudieron crecer a una concentración del 1% de NaCl denominado halófilo débil. Treinta microorganismos pudieron desarrollarse en un rango de salinidad del 1 al 5% catalogados como halófilos. Cincuenta y dos cepas son halófilos extremos que crecieron en un rango de 1 al 10% de NaCl. La clasificación de estos microorganismos está dada por altas concentraciones de salinidad, los microorganismos halófilos extremos son los que predominan en esta investigación.

**Tabla 15.** Crecimiento de las levaduras en función de la salinidad

| <b>Clasificación</b> | <b>N° Cepas</b> |
|----------------------|-----------------|
| Halófilo débil       | 12              |
| Halófilo             | 30              |
| Halófilo Extremo     | 52              |

### **Utilización de aminoácidos como única fuente de carbono y nitrógeno**

De los aminoácidos utilizados en las pruebas fisiológicas para determinar el crecimiento de las levaduras, se puede observar en la Tabla 16 la menor parte de la población que en un rango del 6,77 a 6,93% de la población de levaduras pueden utilizar la cisteína, histidina y lisina mientras que en el rango del 7,5 al 8% de la población pueden utilizar el ácido glutámico, alanina, arginina, asparagina, fenilalanina, leucina, tirosina, treonina y valina. Finalmente, la mayor proporción de la población que representa el 8,5% utiliza el ácido aspártico y asparagina como fuente única de carbono y nitrógeno.

**Tabla 16.** Crecimiento de las levaduras con la utilización de aminoácidos como única fuente de carbono y nitrógeno

| <b>Código</b> | <b>Aminoácido</b> | <b>N° Cepas</b> | <b>%</b> |
|---------------|-------------------|-----------------|----------|
| <b>A1</b>     | Lisina            | 44              | 46,81    |
| <b>A2</b>     | Cisteína          | 42              | 44,68    |
| <b>A3</b>     | Histidina         | 43              | 45,74    |
| <b>A4</b>     | Leucina           | 49              | 52,13    |
| <b>A5</b>     | Arginina          | 48              | 51,06    |
| <b>A6</b>     | Tirosina          | 49              | 52,13    |
| <b>A7</b>     | Ácido Aspártico   | 54              | 57,45    |
| <b>A8</b>     | Alanina           | 51              | 54,26    |
| <b>A9</b>     | Ácido Glutámico   | 52              | 55,32    |
| <b>A10</b>    | Valina            | 51              | 54,26    |
| <b>A11</b>    | Asparagina        | 54              | 57,45    |
| <b>A12</b>    | Treonina          | 48              | 51,06    |
| <b>A13</b>    | Fenilalanina      | 50              | 53,19    |

#### **Utilización de aminoácidos como única fuente de carbono**

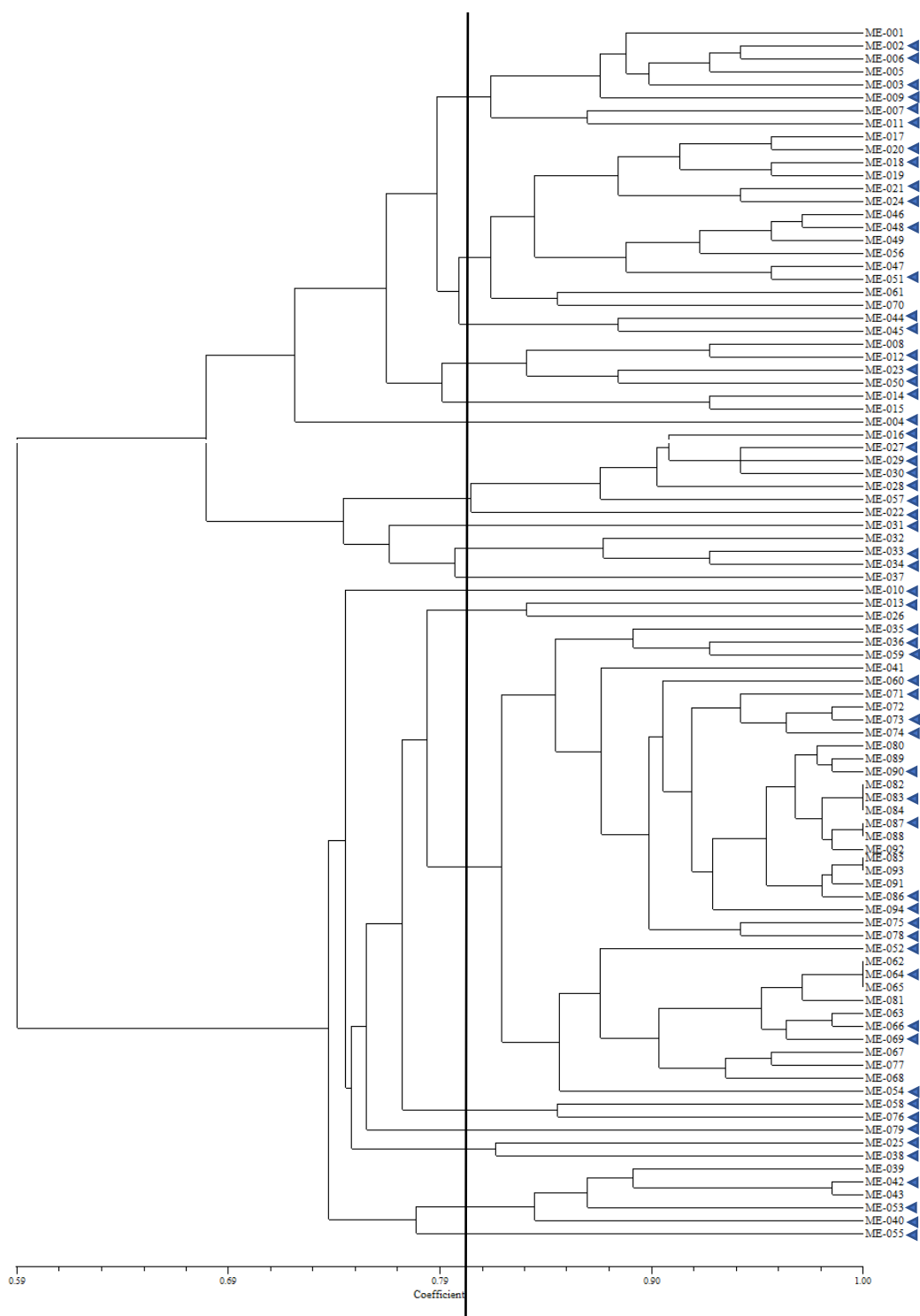
La utilización de los aminoácidos como fuente única de carbono se observa en la Tabla 17 en un rango del 6 al 7% pueden utilizar la cisteína y valina, en el rango del 7,1 al 7,9% pueden utilizar el ácido glutámico, arginina, fenilalanina, histidina, leucina, treonina y valina. Finalmente el mayor porcentaje de la población que equivale a un rango superior al 8 % de la población puede utilizar ácido aspártico, alanina, asparagina y tirosina como fuente única de carbono.

**Tabla 17.** Crecimiento de las levaduras con la utilización de aminoácidos como única fuente de carbono.

| <b>Código</b> | <b>Aminoácido</b> | <b>N° Cepas</b> | <b>%</b> |
|---------------|-------------------|-----------------|----------|
| <b>A1</b>     | Lisina            | 75              | 79,79    |
| <b>A2</b>     | Cisteína          | 62              | 65,96    |
| <b>A3</b>     | Histidina         | 79              | 84,04    |
| <b>A4</b>     | Leucina           | 80              | 85,11    |
| <b>A5</b>     | Arginina          | 77              | 81,91    |
| <b>A6</b>     | Tirosina          | 84              | 89,36    |
| <b>A7</b>     | Ácido Aspártico   | 81              | 86,17    |
| <b>A8</b>     | Alanina           | 81              | 86,17    |
| <b>A9</b>     | Ácido Glutámico   | 80              | 85,11    |
| <b>A10</b>    | Valina            | 70              | 74,47    |
| <b>A11</b>    | Asparagina        | 83              | 88,30    |
| <b>A12</b>    | Treonina          | 80              | 85,11    |
| <b>A13</b>    | Fenilalanina      | 72              | 76,60    |

### **Análisis de taxonomía numérica de datos fenotípicos de las levaduras**

La Figura 1 muestra el dendograma construido a partir de la matriz de código binario de la Tabla C3 (Anexo C) obtenido de las pruebas fenotípicas. La Tabla 18 resume el número de miembros para cada grupo especie extraídos del dendograma. Al realizar el corte al 80% se observó la existencia de dieciséis grupos especie, entre ellos se encuentran cinco grupos formados por un solo miembro y once grupos están formados por varios miembros, el grupo más grande es el 11 que está formado por treinta y siete miembros y abarcan la mayor diversidad de frutos y lugares estudiados, el grupo 1 muestra ser específico para el fruto y lugar en este caso durazno y Montalvo – Palagua, el grupo 8 presenta especificidad para el mismo fruto fresa de dos lugares distintos, el grupo 15 formado por 5 miembros muestra especificidad para el durazno de dos lugares diferentes, los restantes grupos que están formados por más de un miembro y presentan diversidad de fruto y lugar.



**Figura 1.** Dendrograma obtenido a partir de datos fenotípicos con corte al 80% de similaridad mediante el coeficiente de similaridad ( $S_{SM}$ ) y el algoritmo UPGMA.

◀ *Nota:* Las cepas señaladas fueron seleccionadas para la caracterización genética

**Tabla 18.** Grupos especie formados luego del análisis de la taxonomía numérica de datos fenotípicos de las levaduras.

| <b>Grupo</b> | <b>N°<br/>representantes</b> | <b>Miembros</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | <b>procedencia</b>                                                                                                                                                                               |
|--------------|------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>1</b>     | 8                            | ME001 ME002*, ME006*, ME005,<br>ME003*, ME009* ME007*, ME011*                                                                                                                                                                                                                                                   | D1, D1, D1, D1,<br>D1, D1, D1, D1                                                                                                                                                                |
| <b>2</b>     | 16                           | ME017, ME020*, ME018*, ME019<br>ME021*, ME024*, ME046, ME048*,<br>ME049, ME056, ME047, ME051*,<br>ME061, ME070, ME044*, ME045*                                                                                                                                                                                  | D3, D3, D3, D3,<br>D1, D1, D1, D3,<br>D3, M1, D1, D3,<br>M3, F2, D1, D1                                                                                                                          |
| <b>3</b>     | 4                            | ME008, ME012*, ME023*, ME050*,                                                                                                                                                                                                                                                                                  | D1, D1, D1, D3,                                                                                                                                                                                  |
| <b>4</b>     | 2                            | ME014*, ME015                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | D3, D3                                                                                                                                                                                           |
| <b>5</b>     | 1                            | ME004*                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | D1                                                                                                                                                                                               |
| <b>6</b>     | 7                            | ME016*, ME027*, ME029*,<br>ME030*, ME028*, ME022*, ME057*                                                                                                                                                                                                                                                       | D3, D2, D1, D2,<br>D1, D1, M1                                                                                                                                                                    |
| <b>7</b>     | 1                            | ME031*                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | M3                                                                                                                                                                                               |
| <b>8</b>     | 4                            | ME032, ME033* ME034*ME037                                                                                                                                                                                                                                                                                       | F1, F1, F1, F2                                                                                                                                                                                   |
| <b>9</b>     | 1                            | ME010*                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | D1                                                                                                                                                                                               |
| <b>10</b>    | 2                            | ME013*, ME026                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | D3, D2                                                                                                                                                                                           |
| <b>11</b>    | 37                           | ME035*, ME036*, ME059*, ME041,<br>ME060*, ME071*, ME072, ME073*,<br>ME074*, ME078*, ME094*, ME080,<br>ME089, ME090*, ME082, ME083*,<br>ME084, ME087*, ME088, ME092,<br>ME085, ME093, ME086*, ME091,<br>ME067, ME068, ME052*, ME062,<br>ME064*, ME065, ME063, ME066*,<br>ME069*, ME075*, ME077, ME081.<br>ME054* | F3, F3, M1, D3,<br>M1, F3, F3, F3,<br>F3, F3, F2, F3,<br>F3, F3, F3, F3,<br>F3, F3, F3, F3,<br>F3, F3, F3, F3,<br>F3, F3, F3, F3,<br>M3, M3, D3, M3,<br>M3, M3, M3, M3,<br>M3, F3, F3, F3,<br>M3 |

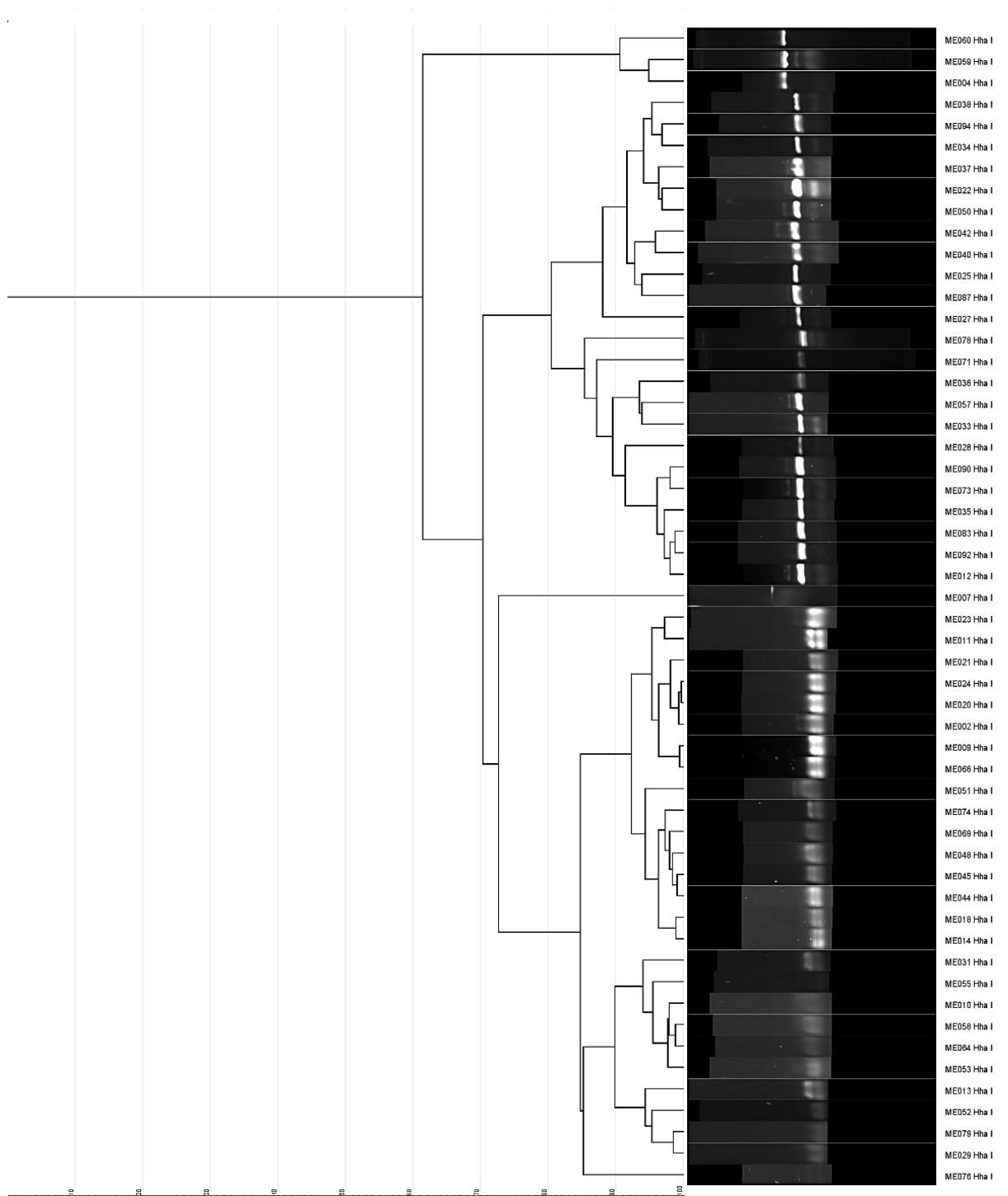
...Continuación tabla 18

| <b>Grupo</b> | <b>N°<br/>representantes</b> | <b>Miembros</b>                         | <b>procedencia</b>    |
|--------------|------------------------------|-----------------------------------------|-----------------------|
| <b>12</b>    | 2                            | ME058* ME076*                           | M1, F3                |
| <b>13</b>    | 1                            | ME079*                                  | F3                    |
| <b>14</b>    | 2                            | ME025*, ME038*                          | D1, F2                |
| <b>15</b>    | 5                            | ME039, ME040*, ME042*, ME043,<br>ME053* | D1, D1, D3, D1,<br>F1 |
| <b>16</b>    | 1                            | ME055*                                  | F1                    |

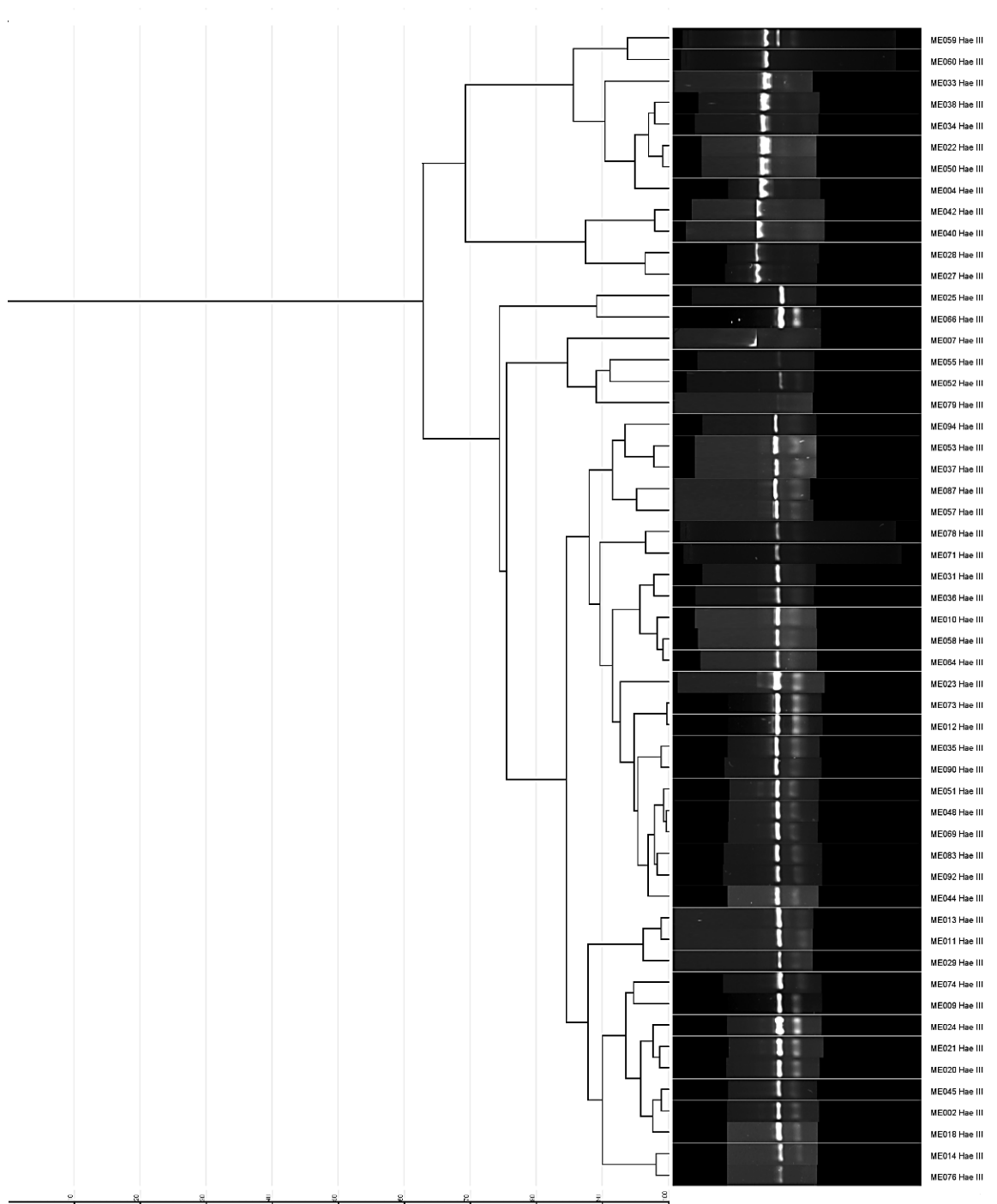
\* Cepas de levaduras seleccionadas para la caracterización genética.

Las cepas ME070 y ME061 no presentaron crecimiento al ser reactivadas de su stock de glicerol. Los resultados de las cepas ME003, ME006, ME016 y ME054 luego de ser digeridas con las enzimas de restricción no fueron guardadas con el formato correcto para ser analizadas en el software GelJ, debido a esto se trabajó con un total de cincuenta y cuatro cepas en el análisis genético.

La Figura 2, Figura 3, Figura 4 son los resultados obtenidos de la digestión de la región RFLP con las enzimas de restricción Hha I, Hae III y Hinf I. Los geles analizados en el software GelJ muestran la agrupación de las cepas de acuerdo a la similaridad del tamaño de las bandas obtenidas en el análisis. Las muestras digeridas con la enzima Hae III muestran bandas más intensas y homogéneas mientras que ciertas cepas analizadas con la enzima Hha I presentan un barrido en el gel. Las muestras analizadas con la enzima Hinf I presenta un promedio de dos bandas.

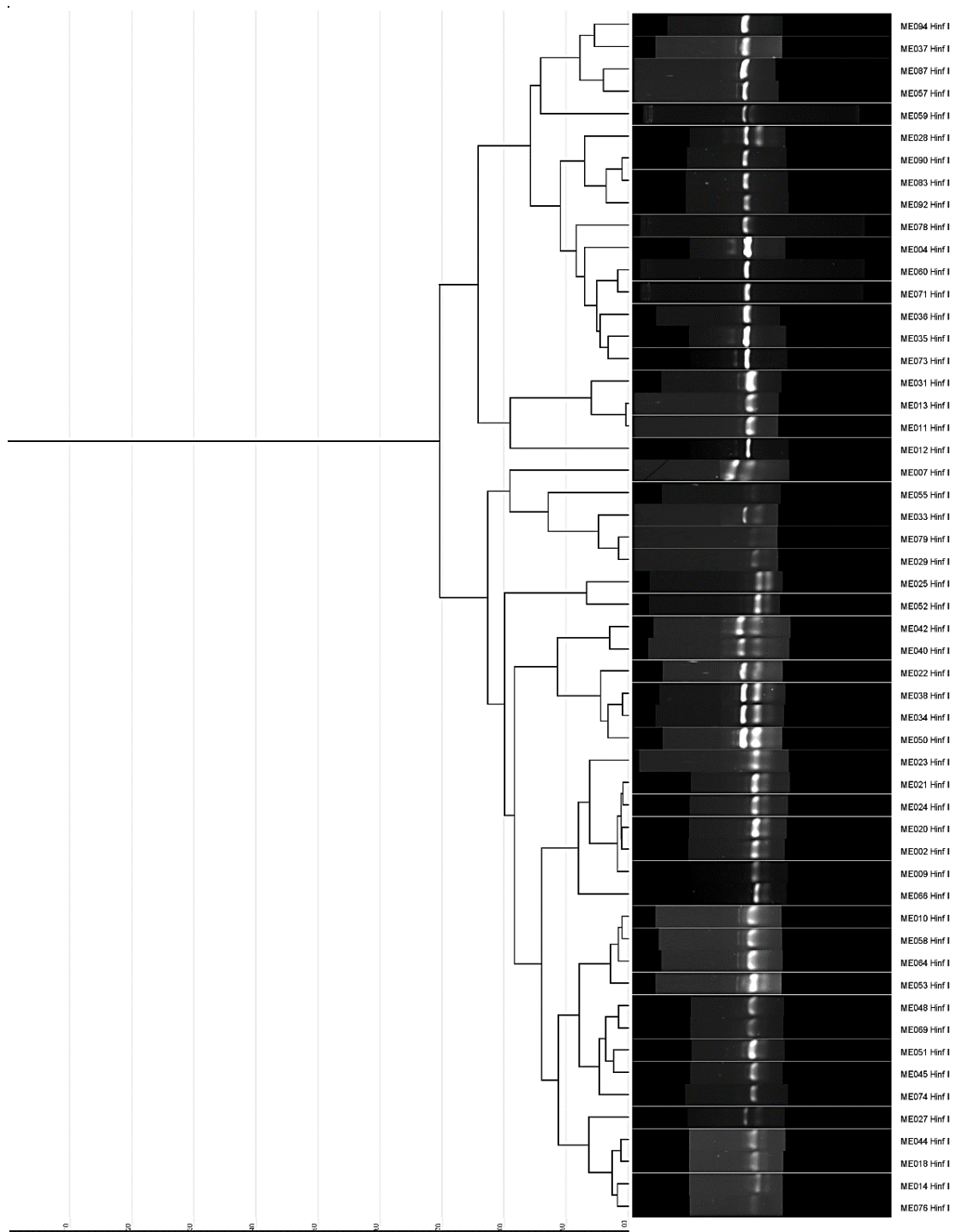


**Figura 2.** Dendrograma obtenido a partir de bandas RFLP con la enzima de restricción Hha I mediante el coeficiente de similitud ( $S_{SM}$ ) y el algoritmo UPGMA.



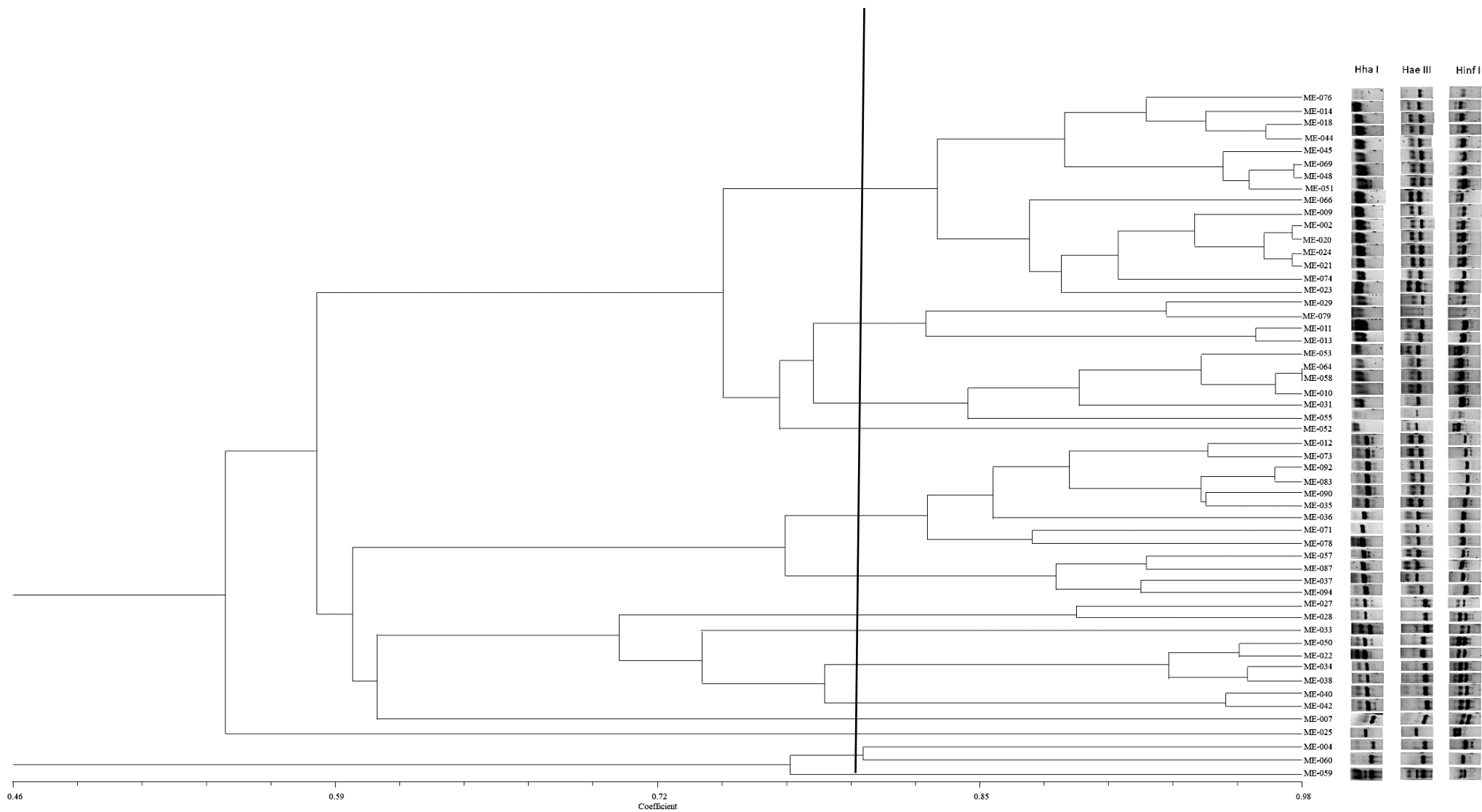
**Figura 3.** Dendrograma obtenido a partir de bandas RFLP con la enzima de restricción Hae III mediante el coeficiente de similitud (S<sub>SM</sub>) y el algoritmo UPGMA.



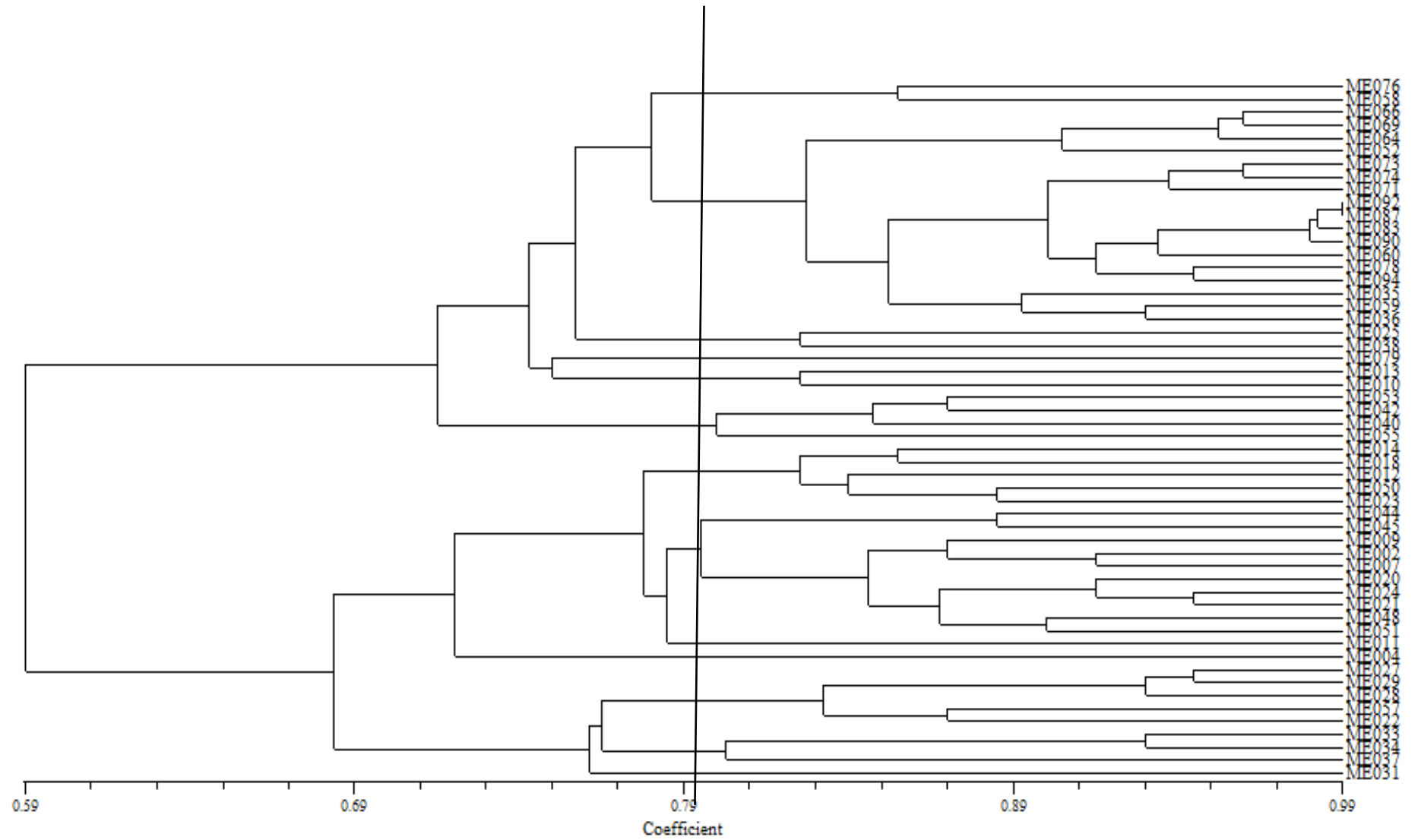


**Figura 4.** Dendrograma obtenido a partir de bandas RFLP con la enzima de restricción Hinf I mediante el coeficiente de similitud ( $S_{SM}$ ) y el algoritmo UPGMA.

La figura 5 presenta el dendrograma final de obtenido de las matrices de similitud de los datos genotípicos donde además se muestra la comparación de las bandas obtenidas con las tres enzimas de restricción.



**Figura 5.** Dendrograma obtenido a partir de datos genotípicos con un corte al 80% mediante el coeficiente de similaridad ( $S_{SM}$ )



**Figura 6.** Dendrograma obtenido a partir de datos fenotípicos genotípicos con un corte al 80% mediante el coeficiente de similitud ( $S_{SM}$ ) y el algoritmo UPGMA

La Tabla 19 resumen los grupos especie formados luego del análisis con los datos fenotípicos y genotípicos de las cincuenta y cuatro muestras. Los grupos 5, 8, 13, 16, 18 están formados por una sola especie son específicos para D1 (durazno de Montalvo-Palagua). El grupo 7 y 17 también formados por una sola especie son específicos para fresa de dos localidades diferentes. El grupo 4 está formado por varios miembros y es específico para un solo fruto durazno de dos localidades Montalvo-Palagua y Tisaleo-Caserío San Francisco. El grupo 14 formado por 10 miembros muestra especificidad para un solo fruto en este caso fresa de la localidad Tisaleo- Caserío San Francisco. El resto de los grupos están formados por varios miembros y se distribuyen para al menos dos frutos y dos localidades distintas.

**Tabla 19.** Grupos especie formados luego del análisis de la taxonomía numérica de datos fenotípicos y genotípicos de las levaduras.

| <b>Grupo</b> | <b>N°<br/>representantes</b> | <b>Miembros</b>                                                                          | <b>Procedencia</b>                                   |
|--------------|------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|
| <b>1</b>     | 2                            | ME076, ME074                                                                             | F3, F3                                               |
| <b>2</b>     | 6                            | ME069, ME064, ME010, ME053,<br>ME058, ME055                                              | M3, M3, D1, F1,<br>M1, F1                            |
| <b>3</b>     | 2                            | ME066, ME052                                                                             | M3, D3                                               |
| <b>4</b>     | 12                           | ME014, ME018, ME044, ME045,<br>ME048, ME051, ME009, ME002,<br>ME020, ME024, ME021, ME023 | D3, D3, D1, D1,<br>D3, D3, D1, D1,<br>D3, D1, D1, D1 |
| <b>5</b>     | 1                            | ME029                                                                                    | D1                                                   |
| <b>6</b>     | 3                            | ME011, ME013, ME031,                                                                     | D1, D3, M3                                           |
| <b>7</b>     | 1                            | ME079                                                                                    | F3                                                   |
| <b>8</b>     | 1                            | ME007                                                                                    | D1                                                   |
| <b>9</b>     | 2                            | ME027, ME028                                                                             | D2, D1                                               |
| <b>10</b>    | 4                            | ME033, ME034, ME050, ME022                                                               | F1, F1, D3, D1                                       |
| <b>11</b>    | 2                            | ME057, ME037                                                                             | M1, F2                                               |
| <b>12</b>    | 2                            | ME040, ME042                                                                             | D1, D3                                               |
| <b>13</b>    | 1                            | ME0012                                                                                   | D1                                                   |
| <b>14</b>    | 10                           | ME073, ME035, ME092, ME083,<br>ME090, ME071, ME078, ME036,<br>ME087, ME094               | F3, F3, F3, F3,<br>F3, F3, F3, F3,<br>F3, F3         |
| <b>15</b>    | 2                            | ME060, ME059                                                                             | M1, M1                                               |
| <b>16</b>    | 1                            | ME025                                                                                    | D1                                                   |
| <b>17</b>    | 1                            | ME038                                                                                    | F2                                                   |
| <b>18</b>    | 1                            | ME004                                                                                    | D1                                                   |

### **Discusión general**

El presente estudio aborda el aislamiento y caracterización fenotípica y genotípica de noventa y cuatro levaduras obtenidas de frutos de durazno, fresa y manzana de distintas

localidades. Los frutos sometidos a un proceso de fermentación permitieron la proliferación y crecimiento de las levaduras, su proceso de metabolismo convierte el azúcar de los frutos en alcohol y ácidos orgánicos que luego reaccionan para formar aldehídos esterés y otros compuestos químicos (Saranraj, Sivasakthivelan y Naveen 2017). Se obtuvo datos de ufc/ml relativamente altos con los que se determinó la diferencia de la población de levaduras entre frutas y lugar de recolección. Las caracterizaciones morfológicas señalaron que la mayoría de las levaduras del estudio presentan un margen entero, elevación plana, superficie lisa y rugosa, y una textura butirosa. La forma predominante es ovalada. Tikka et al. 2013 reporta en su estudio de aislamiento y caracterización de levaduras que la mayoría son de forma ovalada, textura cremosa y color crema. Las pruebas fisiológicas realizadas mostraron que el mayor porcentaje de las levaduras son mesófilas, halófilas y neutrotolerantes.

El análisis de las pruebas fenotípicas ayudó a tener una noción más clara de los posibles grupos especie, basados en un coeficiente de similaridad con un corte al 80% se seleccionó las cepas que pueden ser representativas para el estudio molecular de esta manera se obtuvo en la primera parte de la investigación 16 posibles grupos especie. La selección de las cincuenta y cuatro levaduras para el análisis genético comparó las similitudes de los perfiles de las bandas reagrupando a las cepas de levaduras aun cuando fenotípicamente habían sido consideradas diferentes. En la Figura 5 al visualizar los perfiles de las bandas obtenidas mostraron similitudes en cada uno de los grupos formados. El análisis final del estudio relacionó los datos fenotípicos y genotípicos de las cincuenta y cuatro levaduras permitiendo que se formen grupos especie de esta forma se confirma la distribución de varias cepas de levaduras para frutos y localidades específicas de donde fueron aisladas estableciendo diferencias significativas entre los grupos de especie en términos de diversidad, en total se obtuvieron 18 grupos lo que establece que podrán existir dieciocho especies diferentes en el presente estudio. La clasificación de las levaduras basada en criterios polifásicos permitió tener una mejor identificación y distribución en los esquemas de selección de estos microorganismos de importancia biotecnológica que se encuentran formando parte del banco de germoplasma del grupo de investigación en Biotecnología Microbiana de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

### **3.2 Verificación de hipótesis**

#### **Hipótesis nula ( $H_0$ )**

No existe diversidad entre las levaduras aisladas de frutos de durazno, fresa y manzana en base a sus características fenotípicas y genotípicas.

#### **Hipótesis alternativa ( $H_1$ )**

Existe al menos cinco grupos especie diferentes entre las levaduras aisladas de frutos de durazno, fresa y manzana en base a sus características fenotípicas y genotípicas.

En base a los resultados obtenidos de identificación y clasificación de las levaduras de acuerdo a sus características fenotípicas y genotípicas se acepta la hipótesis alternativa, que existe al menos cinco grupos especie diferentes entre las levaduras aisladas de frutos de durazno, fresa y manzana.

## CAPITULO IV

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 4.1 Conclusiones

Al analizar los grupos formados a partir de los datos de taxonomía numérica se demostró la especificidad que tenían tanto para los frutos como los lugares de los que fueron aislados. Esto debido a las diferencias morfológicas, fisiológicas y genéticas encontradas en el estudio.

Se aislaron, seleccionaron y se conservaron noventa y cuatro cepas de levaduras de las cuales cuarenta y cuatro pertenecen a durazno, treinta y cuatro a fresa y dieciséis a manzana. Estas cepas pasaron a formar parte del banco de germoplasma de microorganismos de interés biotecnológico.

Con la realización de las sesenta y siete pruebas de caracterización fenotípica se pudo obtener información relevante para la diferenciación de cada una de las cepas de levaduras aisladas de frutos, llegando a obtener 16 grupos especie que demostraron la diversidad y distribución de los microorganismos por fruto y lugar de recolección en la primera parte del estudio.

La caracterización genotípica de las cincuenta y cuatro cepas de levaduras estableció diferencias significativas entre los grupos formados de acuerdo a la identificación visual y tamaño de sus bandas que se obtuvieron de la digestión de la región ITS.

El análisis final de taxonomía numérica dió como resultado la formación de dieciocho grupos que están formados de los cuales la mayoría fueron grupos multimiembros que son específicos para al menos dos frutos y lugares.

#### 4.2 Recomendaciones

Realizar más pruebas fenotípicas como asimilación de diferentes fuentes de carbono, azúcares, manitol, indol entre otras, que nos brinden una mayor cantidad de datos y así obtener información que permita comparar las diferencias de cada organismo.

Aislar levaduras de otros tipos de frutos con fin de fortalecer el banco de germoplasma del grupo de Investigación de Biotecnología Microbiana.



Realizar la secuenciación de la subunidad 26s del gen ribosomal para identificar a nivel de género y especie las levaduras obtenidas en esta investigación.

## MATERIALES DE REFERENCIA

### Referencias Bibliográficas

ALBA y SEGAL, 2010. Yeast, Fermentation, Beer, Wine | Learn Science at Scitable. [en línea]. [Consulta: 3 julio 2018]. Disponible en: <https://www.nature.com/scitable/topicpage/yeast-fermentation-and-the-making-of-beer-14372813>.

ALMEIDA y BETANCOURT, 2015. *Aislamiento e identificación de la taxa de levaduras presentes en el tomate de árbol (Solanum beraceum con capacidad fermentativa y resistencia alcoholica*. 2015. S.l.: s.n.

BECZE, 1995. *A Microbiological Process Report Yeasts: I. Morphology* [en línea]. 1995. S.l.: Research Laboratories, Schenley Distillers, Inc., Lawrenceburg, Indiana. Disponible en: <https://aem.asm.org/content/aem/4/1/1.full.pdf>.

BISSON, L.F., 2004. The Biotechnology of Wine Yeast. *Food Biotechnology*, vol. 18, no. 1, pp. 63-96. ISSN 0890-5436. DOI 10.1081/FBT-120030385.

BOTSTEIN, D., WHITE, R.L., SKOLNICK, M. y DAVIS, R.W., 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics*, vol. 32, no. 3, pp. 314-331. ISSN 0002-9297.

BOUNDY-MILLS, K., 2012. Yeast culture collections of the world: meeting the needs of industrial researchers. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, vol. 39, no. 5, pp. 673-680. ISSN 1476-5535. DOI 10.1007/s10295-011-1078-5.

CARVALHO, C.M., ROCHA, A., ESTEVINHO, M.L.F. y CHOUPINA, A., 2005. Identification of Honey Yeast Species Based on Rflp Analysis of the Its Region Identificación De Especies De Levaduras De Miel Basada En Análisis Rflp De La Region Its Identificación De Especies De Levaduras De Mel Basada En Análisis Rflp Da Rexión Its. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, vol. 5, no. 1, pp. 11-17. ISSN 1135-8122. DOI 10.1080/11358120509487665.

CEVALLOS, 2014. *“DETERMINACIÓN DE LA BIODIVERSIDAD Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE LEVADURAS ASOCIADAS A FRUTOS DE MORA DE CASTILLA (Rubus glaucus) DE TRES LOCALIDADES DE LA PROVINCIA DE TUNGURAHUA”*. 2014. S.l.: s.n.

CÓRDOBA, I.A.V., PÉREZ, M. del S.Y. y VILLADIEGO, O.S.R., 2004. Producción de xilitol a partir de levaduras nativas colombianas\*. *Revista Colombiana de Biotecnología*, vol. 6, no. 2, pp. 31-36. ISSN 1909-8758.

DANIELS, C. y RAMOS, J., 2009. Microbial Biotechnology from medicine to bacterial population dynamics. *Microbial biotechnology*, vol. 2, no. 3, pp. 304-307. ISSN 1751-7915. DOI 10.1111/j.1751-7915.2009.00110.x.

EGERT, M. y FRIEDRICH, M.W., 2003. Formation of Pseudo-Terminal Restriction Fragments, a PCR-Related Bias Affecting Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis of Microbial Community Structure. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 69, no. 5, pp. 2555-2562. ISSN 0099-2240, 1098-5336. DOI 10.1128/AEM.69.5.2555-2562.2003.

ELDAROV, M.A., BELETSKY, A.V., TANASHCHUK, T.N., KISHKOVSKAYA, S.A., RAVIN, N.V. y MARDANOV, A.V., 2018. Whole-Genome Analysis of Three Yeast Strains Used for Production of Sherry-Like Wines Revealed Genetic Traits Specific to Flor Yeasts. *Frontiers in Microbiology* [en línea], vol. 9. [Consulta: 19 septiembre 2018]. ISSN 1664-302X. DOI 10.3389/fmicb.2018.00965. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5962777/>.

GAVIRIA, J. y OSORIO, E., 2012. Diversidad de levaduras asociadas a inflorescencias de mango y flores de “lulo arbóreo”. *INGRESAR A LA REVISTA*, vol. 10, no. 2, pp. 160-169. ISSN 1909-9959.

GONZÁLEZ-LEOS, A., ANGEL, D.A.-D., ALFREDO, J., GONZÁLEZ-CASTILLO, J.L., RODRÍGUEZ-DURÁN, N., BUSTOS-VÁZQUEZ, G., GONZÁLEZ-LEOS, A., ANGEL, D.A.-D., ALFREDO, J., GONZÁLEZ-CASTILLO, J.L., RODRÍGUEZ-DURÁN, N. y BUSTOS-VÁZQUEZ, G., 2017. Evaluación de levaduras nativas productoras de etanol presentes en el bagazo de caña de azúcar. *CienciaUAT*, vol. 11, no. 2, pp. 80-92. ISSN 2007-7858.

GRANCHI, null, BOSCO, null, MESSINI, null y VINCENZINI, null, 1999. Rapid detection and quantification of yeast species during spontaneous wine fermentation by PCR-RFLP analysis of the rDNA ITS region. *Journal of Applied Microbiology*, vol. 87, no. 6, pp. 949-956. ISSN 1365-2672.

GUAMÁN-BURNEO, C. y CARVAJAL-BARRIGA, J., 2009. Caracterización e identificación de aislados de levaduras carotenogénicas de varias zonas naturales del Ecuador. *Universitas Scientiarum*, vol. 14, no. 2-3, pp. 187-197. ISSN 2027-1352.

JANSEN, M.L.A., BRACHER, J.M., PAPAPETRIDIS, I., VERHOEVEN, M.D., DE BRUIJN, H., DE WAAL, P.P., VAN MARIS, A.J.A., KLAASSEN, P. y PRONK, J.T., 2017. *Saccharomyces cerevisiae* strains for second-generation ethanol production: from academic exploration to industrial implementation. *FEMS Yeast Research* [en línea], vol. 17, no. 5. [Consulta: 9 julio 2018]. ISSN 1567-1356. DOI 10.1093/femsyr/fox044. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5812533/>.

KOEDRITH, P., DUBOIS, E., SCHERENS, B., JACOBS, E., BOONCHIRD, C. y MESSENGUY, F., 2008. Identification and characterization of a thermotolerant yeast strain isolated from banana leaves. *ScienceAsia*, vol. 34, no. 2, pp. 147. ISSN 1513-1874. DOI 10.2306/scienceasia1513-1874.2008.34.147.

KOGJE, A. y GHOSALKAR, A., 2016. Xylitol production by *Saccharomyces cerevisiae* overexpressing different xylose reductases using non-detoxified hemicellulosic hydrolysate of corncob. *3 Biotech* [en línea], vol. 6, no. 2. [Consulta: 4

septiembre 2018]. ISSN 2190-5738. DOI 10.1007/s13205-016-0444-4. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4909029/>.

KORABECNA, M., 2007. The Variability in the Fungal Ribosomal DNA (ITS1, ITS2, and 5.8 S rRNA Gene): Its Biological Meaning and Application. *in Medical Mycology. In Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology, Méndez-Vilas*. S.l.: s.n.,

KURTZMAN, C., FELL, J.W. y BOEKHOUT, T., 2011. *The Yeasts: A Taxonomic Study* [en línea]. Saint Louis, NETHERLANDS: Elsevier Science & Technology. [Consulta: 9 julio 2018]. ISBN 978-0-08-093127-2. Disponible en: <http://ebookcentral.proquest.com/lib/uta-ebooks/detail.action?docID=630004>.

LLANOS, R. de, QUEROL, A., PLANES, A.M. y FERNÁNDEZ-ESPINAR, M.T., 2004. Molecular Characterization of Clinical *Saccharomyces cerevisiae* Isolates and their Association with Non-Clinical Strains. *Systematic and Applied Microbiology; Stuttgart*, vol. 27, no. 4, pp. 427-435. ISSN 07232020.

LÓPEZ-ARBOLEDA, W.A., RAMÍREZ-CASTRILLÓN, M., MAMBUSCAY-MENA, L.A. y OSORIO-CADAVID, E., 2010. Diversidad de levaduras asociadas a chichas tradicionales de Colombia. *Revista Colombiana de Biotecnología*, vol. XII, no. 2, pp. 176-186. ISSN 0123-3475, 1909-8758.

MATA-GÓMEZ, L.C., MONTAÑEZ, J.C., MÉNDEZ-ZAVALA, A. y AGUILAR, C.N., 2014. Biotechnological production of carotenoids by yeasts: an overview. *Microbial Cell Factories*, vol. 13, pp. 12. ISSN 1475-2859. DOI 10.1186/1475-2859-13-12.

MEDINA, C.M., CRISTANCHO, D. y URIBE, D., 2009. RESPUESTA FISIOLÓGICA Y CAPACIDAD ANTAGONISTA DE AISLAMIENTOS FILOSFÉRICOS DE LEVADURAS OBTENIDOS EN CULTIVOS DE MORA (*Rubus glaucus*). *Acta Biológica Colombiana*, vol. 14, no. 3, pp. 181-198. ISSN 0120-548X.

MENDOZA<sup>1</sup>, M., 2005. Importancia de la identificación de levaduras. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, vol. 25, no. 1, pp. 15-23. ISSN 1315-2556.

MONROY SALAZAR, H., A.Z.M., S., KHOLIF, A., MONROY, H., PÉREZ, L.S., ZAMORA, J.L. y GUTIÉRREZ, A., 2016. YEAST: DESCRIPTION AND STRUCTURE. . S.l.: s.n., pp. 4-13. ISBN 978-93-83312-02-3.

OCHOA, J.L. y VÁZQUEZ JUÁREZ, R., 2004. LAS LEVADURAS MARINAS COMO HERRAMIENTAS CIENTÍFICA Y BIOTECNOLÓGICA. *Universidad y Ciencia* [en línea], vol. Num. Esp., no. I. [Consulta: 20 mayo 2018]. ISSN 0186-2979. Disponible en: <http://www.redalyc.org/resumen.oa?id=15409906>.

OSORIO CADAVID, E., RAMÍREZ, M., LÓPEZ, W.A. y MAMBUSCAY, L.A., 2009. Standarization of a simple protocol for yeast genomic DNA extraction. *Revista Colombiana de Biotecnología*, vol. 11, no. 1, pp. 125-131. ISSN 0123-3475.

OSORIO-CADAVID, E., RAMÍREZ, M., LÓPEZ, W.A. y MAMBUSCAY, L.A., 2009. Estandarización de un protocolo sencillo para la extracción de ADN genómico de levaduras. *Revista Colombiana de Biotecnología*, vol. 11, no. 1, pp. 125-131. ISSN 1909-8758.

OSUMI, M., 1998. The ultrastructure of yeast: cell wall structure and formation. *Micron (Oxford, England: 1993)*, vol. 29, no. 2-3, pp. 207-233. ISSN 0968-4328.

PADIAL, J.M., MIRALLES, A., DE LA RIVA, I. y VENCES, M., 2010. The integrative future of taxonomy. *Frontiers in Zoology*, vol. 7, pp. 16. ISSN 1742-9994. DOI 10.1186/1742-9994-7-16.

PERIS, D., PÉREZ-TORRADO, R., HITTINGER, C.T., BARRIO, E. y QUEROL, A., 2018. On the origins and industrial applications of *Saccharomyces cerevisiae* × *Saccharomyces kudriavzevii* hybrids. *Yeast (Chichester, England)*, vol. 35, no. 1, pp. 51-69. ISSN 1097-0061. DOI 10.1002/yea.3283.

RILEY, R., HARIDAS, S., WOLFE, K.H., LOPES, M.R., HITTINGER, C.T., GÖKER, M., SALAMOV, A.A., WISECAVER, J.H., LONG, T.M., CALVEY, C.H., AERTS, A.L., BARRY, K.W., CHOI, C., CLUM, A., COUGHLAN, A.Y., DESHPANDE, S., DOUGLASS, A.P., HANSON, S.J., KLENK, H.-P., LABUTTI, K.M., LAPIDUS, A., LINDQUIST, E.A., LIPZEN, A.M., MEIER-KOLTHOFF, J.P., OHM, R.A., OTILLAR, R.P., PANGILINAN, J.L., PENG, Y., ROKAS, A., ROSA, C.A., SCHEUNER, C., SIBIRNY, A.A., SLOT, J.C., STIELOW, J.B., SUN, H., KURTZMAN, C.P., BLACKWELL, M., GRIGORIEV, I.V. y JEFFRIES, T.W., 2016. Comparative genomics of biotechnologically important yeasts. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 113, no. 35, pp. 9882-9887. ISSN 0027-8424. DOI 10.1073/pnas.1603941113.

STEENSELS, J., SNOEK, T., MEERSMAN, E., NICOLINO, M.P., VOORDECKERS, K. y VERSTREPEN, K.J., 2014. Improving industrial yeast strains: exploiting natural and artificial diversity. *Fems Microbiology Reviews*, vol. 38, no. 5, pp. 947-995. ISSN 0168-6445. DOI 10.1111/1574-6976.12073.

SUN, S., WANG, X. y HEITMAN, J., 2011. Sex in Fungi. *Annual Review of Genetics*, vol. 45, pp. 405-430. ISSN 0066-4197. DOI 10.1146/annurev-genet-110410-132536.

TESFAW, A. y ASSEFA, F., 2014. Current Trends in Bioethanol Production by *Saccharomyces cerevisiae*: Substrate, Inhibitor Reduction, Growth Variables, Coculture, and Immobilization. *International Scholarly Research Notices* [en línea]. [Consulta: 17 febrero 2018]. Disponible en: <https://www.hindawi.com/journals/isrn/2014/532852/>.

TRUJILLO y HERNÁNDEZ, 2015. *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* [en línea]. 2015. S.l.: Revista Ingeniería y Región. 2015;13(1):37-45. Disponible en: [file:///C:/Users/hp/Downloads/Dialnet-AislamientoYCaracterizacionDeLevadurasPresentesEnE-5432278%20\(7\).pdf](file:///C:/Users/hp/Downloads/Dialnet-AislamientoYCaracterizacionDeLevadurasPresentesEnE-5432278%20(7).pdf).

ULLOA, J., LIBKIND, D., FONTENLA, S. y VAN BROOCK, M., 2009. Levaduras fermentadoras aisladas de *Cyttaria hariatii* (Fungi) en bosques Andino-Patagónicos (Argentina). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, vol. 44, no. 3-4, pp. 239-248. ISSN 1851-2372.

USCANGA, B.R.A., PACHECO, J.R.S. y FRANCIOS, J., 2005. Estudio de la variación de la composición de los polisacáridos contenidos en la pared celular de la levadura «*Saccharomyces Cerevisiae*». *e-Gnosis* [en línea], vol. 3, no. 0. [Consulta: 26 julio 2018]. ISSN 1665-5745. Disponible en: <http://www.e-gnosis.udg.mx/index.php/e-gnosis/article/view/46>.

VADKERTIOVÁ, R., MOLNÁROVÁ, J., VRÁNOVÁ, D. y SLÁVIKOVÁ, E., 2012. Yeasts and yeast-like organisms associated with fruits and blossoms of different fruit trees. *Canadian Journal of Microbiology*, vol. 58, no. 12, pp. 1344-1352. ISSN 1480-3275. DOI 10.1139/cjm-2012-0468.

VÁSQUEZ, J.A.V., CASTRILLÓN, M.R. y MONSALVE, Z.I.M., 2016. Actualización en caracterización molecular de levaduras de interés industrial. *Revista Colombiana de Biotecnología*, vol. 18, no. 2, pp. 129-139. ISSN 1909-8758. DOI <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v18n2.61530>.

VEGA-CELEDÓN, P., CANCHIGNIA MARTÍNEZ, H., GONZÁLEZ, M. y SEEGER, M., 2016. Biosíntesis de ácido indol-3-acético y promoción del crecimiento de plantas por bacterias. *Cultivos Tropicales*, vol. 37, pp. 33-39. ISSN 0258-5936.

WANG, K., SIPILÄ, T.P. y OVERMYER, K., 2016. The isolation and characterization of resident yeasts from the phylloplane of *Arabidopsis thaliana*. *Scientific Reports*, vol. 6, pp. 39403. ISSN 2045-2322. DOI 10.1038/srep39403.

WANG, Q.-M., YURKOV, A.M., GÖKER, M., LUMBSCH, H.T., LEAVITT, S.D., GROENEWALD, M., THEELEN, B., LIU, X.-Z., BOEKHOUT, T. y BAI, F.-Y., 2015. Phylogenetic classification of yeasts and related taxa within Pucciniomycotina. *Studies in Mycology*, vol. 81, pp. 149. DOI 10.1016/j.simyco.2015.12.002.

YANG, Q., ZHANG, H., ZHANG, X., ZHENG, X. y QIAN, J., 2015. Phytic Acid Enhances Biocontrol Activity of *Rhodotorula mucilaginosa* against *Penicillium expansum* Contamination and Patulin Production in Apples. *Frontiers in Microbiology* [en línea], vol. 6. [Consulta: 4 septiembre 2018]. DOI 10.3389/fmicb.2015.01296. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4655349/>.

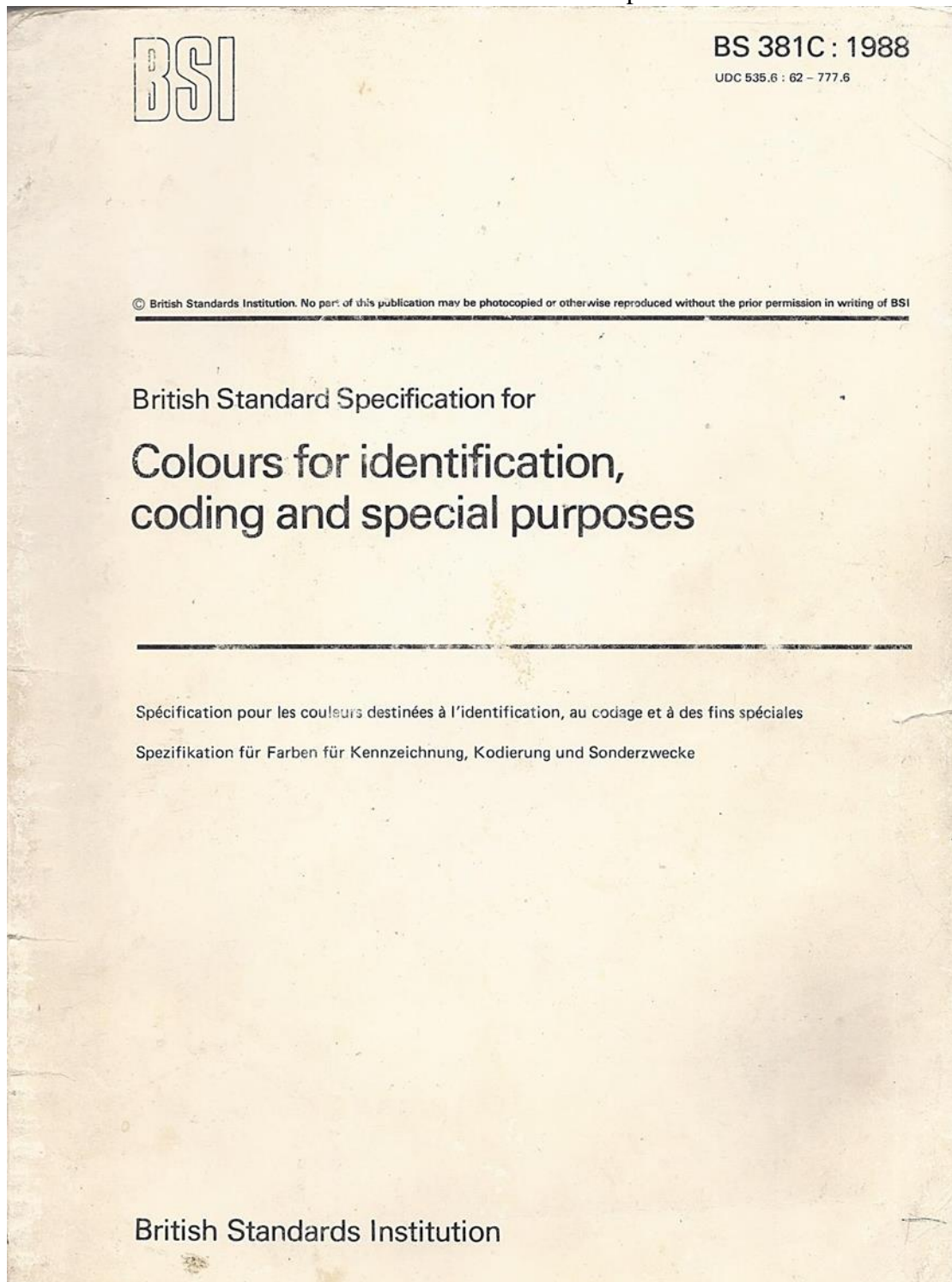
YURKOV, A.M., 2018. Yeasts of the soil – obscure but precious. *Yeast (Chichester, England)*, vol. 35, no. 5, pp. 369-378. ISSN 0749-503X. DOI 10.1002/yea.3310.

ZARZOSO, BELLOCH, URUBURU y QUERO, 1999. *Identification of yeasts by RFLP analysis of the 5.85 rRNA gene and the two ribosomal internal transcribed spacers* [en línea]. 1999. S.l.: Printed in Great Britain. Disponible en: <http://www.microbiologyresearch.org/docserver/fulltext/ijsem/49/1/ijsem-49-1-329.pdf?expires=1537846236&id=id&accname=guest&checksum=195238BB17E58BF84B907D75FA73CD00>. 49, 329-337

Anexos

# **ANEXO A TABLA DE COLORES**

**Tabla A1.** Tabla de colores del British Standard Specification for colours







172 Pale roundel blue



112 Arctic blue



101 Sky blue



103 Peacock blue



104 Azure blue



109 Middle blue



113 Deep Saxe blue



110 Roundel blue



105 Oxford blue



106 Royal blue

See also 'strong' colours on page 17.



310 Primrose



367 Manilla



365 Vellum



353 Deep cream



369 Biscuit



352 Pale cream



384 Light straw



389 Camouflage beige



388 Beige



358 Light buff



361 Light stone



320 (410) Light brown



337 (437) Very dark drab



499 Service brown

See also 'strong' colours on page 17.



447 Salmon pink



797 Light violet



454 Pale roundel red



414 Golden brown



411 Middle brown



445 Venetian red



542 Ruby



436M Dark camouflage brown



412 Dark brown



541 Maroon

See also 'strong' colours on page 17.



756 Dark violet



108 Aircraft blue



166 French blue



175 Light French blue



107 Strong blue



228 Emerald green



262 Bold green



221 Brilliant green



218 Grass green



309 Canary yellow



363 Bold yellow



355 Lemon



356 Golden yellow



568 (368) Apricot



557 Light orange



592 International orange



593 Rail red



537 Signal red



564 Bold red



539 Currant red



538 Cherry

# **ANEXO B MEDIOS DE CULTIVO Y SOLUCIONES**

## MEDIOS DE CULTIVO Y SOLUCIONES

### SISTEMA DE BUFFERS

**Tabla B1.** Búfer de fosfato di básico de sodio y ácido cítrico

| <b>pH</b> | <b>Ácido Cítrico 0,1 M</b> | <b>Fosfato di Básico de Sodio 0,2 M</b> |
|-----------|----------------------------|-----------------------------------------|
| 2,60      | 89,10 ml                   | 10,90 ml                                |
| 3,00      | 79,45 ml                   | 20,55 ml                                |
| 3,50      | 69,75 ml                   | 30,25 ml                                |
| 4,00      | 61,45 ml                   | 38,55 ml                                |
| 4,50      | 54,57 ml                   | 45,43 ml                                |
| 5,00      | 48,50 ml                   | 51,50 ml                                |
| 5,50      | 43,13 ml                   | 56,87 ml                                |
| 6,00      | 36,85 ml                   | 63,15 ml                                |
| 6,50      | 29,04 ml                   | 70,96 ml                                |
| 7,00      | 17,65 ml                   | 82,35 ml                                |
| 7,50      | 7,02 ml                    | 92,38 ml                                |

Solución de ácido cítrico 0.1 M (PM: 210,14 g), solución de fosfato di básico de Sodio 0,2 M (PM: 141,98 g). Se prepara un volumen final de 100 ml.

**Tabla B2.** Búfer de hidróxido de sodio y ácido bórico

| <b>pH</b> | <b>Hidróxido de Sodio 0,2 M</b> | <b>Ácido Bórico 0,2 M</b> |
|-----------|---------------------------------|---------------------------|
| 8,5       | 75,00 ml                        | 25,00 ml                  |
| 9,5       | 55,00 ml                        | 45,00 ml                  |

Solución de hidróxido de sodio 0,2 M (PM: 40 g), solución de ácido bórico 0,2 M (PM: 61,68 g). Se prepara un volumen final de 100ml.

**Tabla B3.** Medio basal para aminoácidos como fuente única de carbono y nitrógeno

| <b>Componente</b>               | <b>Cantidad</b> |
|---------------------------------|-----------------|
| K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> | 0,50 g          |
| Sales traza                     | 1,00 ml         |
| Agar                            | 15,00 g         |
| Aminoácido                      | 1,00 g          |
| Agua                            | 1000,00 ml      |

**Tabla B4.** Medio básico para aminoácidos como fuente única de carbono

| <b>Componente</b>                         | <b>Cantidad</b> |
|-------------------------------------------|-----------------|
| Solución Yeast nitrogen base casaminoacid | 10,00 ml        |
| Agar                                      | 15,00 g         |
| Aminoácido                                | 0,1 %           |
| Agua                                      | 1000,00 ml      |

**SOLUCIONES EMPLEADAS EN LOS ANÁLISIS MOLECULARES****Tabla B5.** Búfer de lisis

| <b>Componente</b>      | <b>Cantidad</b> |
|------------------------|-----------------|
| Tris 50 mM(Invitrogen) | <b>1,20 g</b>   |
| NaCl 250 mM            | 2,90 g          |
| EDTA 50mM (Panreac)    | 20,00 ml        |
| SDS 0,3% (Sigma)       | 0,6,0 g         |
| Agua                   | 200,00 ml       |
| pH                     | 8,00            |

**Tabla B6.** Buffer TBE 10x

| <b>Componente</b> | <b>Cantidad</b> |
|-------------------|-----------------|
| Tris              | <b>21,60 g</b>  |
| Ácido bórico      | 11,00 g         |
| EDTA 0,5M (pH 8)  | 4,00 ml         |
| Agua              | 200,00 ml       |

**Tabla B7.** TE 1X (Tris-EDTA pH 7.4)

| <b>Componente</b>                        | <b>Cantidad</b> |
|------------------------------------------|-----------------|
| Tris-Cl (desired pH) (mw: 157.594 g/mol) | 15.759 g        |
| EDTA (pH 8) (mw: 292.24 g/mol)           | 2.92 g          |
| Agua                                     | 1000,00 ml      |

# **ANEXO C DATOS EXPERIMENTALES**



**Tabla C1.** Codificación y origen de las levaduras aisladas

| Código de conservación | Medio     | Dilución         | Fruta   | Lugar de Recolección       |
|------------------------|-----------|------------------|---------|----------------------------|
| <b>ME001</b>           | YPD       | 10 <sup>-3</sup> | Durazno | Montalvo -Palagua          |
| <b>ME002</b>           | YPD       | 10 <sup>-3</sup> | Durazno | Montalvo -Palagua          |
| <b>ME003</b>           | YPD       | 10 <sup>-3</sup> | Durazno | Montalvo -Palagua          |
| <b>ME004</b>           | YPD       | 10 <sup>-3</sup> | Durazno | Montalvo -Palagua          |
| <b>ME005</b>           | YPD       | 10 <sup>-3</sup> | Durazno | Montalvo -Palagua          |
| <b>ME006</b>           | YPD       | 10 <sup>-3</sup> | Durazno | Montalvo -Palagua          |
| <b>ME007</b>           | YPD       | 10 <sup>-3</sup> | Durazno | Montalvo -Palagua          |
| <b>ME008</b>           | YPD       | 10 <sup>-4</sup> | Durazno | Montalvo -Palagua          |
| <b>ME009</b>           | YPD       | 10 <sup>-3</sup> | Durazno | Montalvo -Palagua          |
| <b>ME010</b>           | YPD       | 10 <sup>-4</sup> | Durazno | Montalvo -Palagua          |
| <b>ME011</b>           | YPD       | 10 <sup>-4</sup> | Durazno | Montalvo -Palagua          |
| <b>ME012</b>           | YPD       | 10 <sup>-4</sup> | Durazno | Montalvo -Palagua          |
| <b>ME013</b>           | Sabouraud | 10 <sup>-4</sup> | Durazno | Alobamba El Triunfo        |
| <b>ME014</b>           | Sabouraud | 10 <sup>-4</sup> | Durazno | Alobamba El Triunfo        |
| <b>ME015</b>           | Sabouraud | 10 <sup>-4</sup> | Durazno | Alobamba El Triunfo        |
| <b>ME016</b>           | Sabouraud | 10 <sup>-4</sup> | Durazno | Alobamba El Triunfo        |
| <b>ME017</b>           | Sabouraud | 10 <sup>-3</sup> | Durazno | Alobamba El Triunfo        |
| <b>ME018</b>           | Sabouraud | 10 <sup>-3</sup> | Durazno | Alobamba El Triunfo        |
| <b>ME019</b>           | Sabouraud | 10 <sup>-3</sup> | Durazno | Alobamba El Triunfo        |
| <b>ME020</b>           | Sabouraud | 10 <sup>-3</sup> | Durazno | Alobamba El Triunfo        |
| <b>ME021</b>           | Sabouraud | 10 <sup>-4</sup> | Durazno | Montalvo -Palagua          |
| <b>ME022</b>           | Sabouraud | 10 <sup>-4</sup> | Durazno | Montalvo -Palagua          |
| <b>ME023</b>           | Sabouraud | 10 <sup>-4</sup> | Durazno | Montalvo -Palagua          |
| <b>ME024</b>           | Sabouraud | 10 <sup>-4</sup> | Durazno | Montalvo -Palagua          |
| <b>ME025</b>           | Sabouraud | 10 <sup>-3</sup> | Durazno | Montalvo -Palagua          |
| <b>ME026</b>           | Sabouraud | 10 <sup>-4</sup> | Durazno | Huachi Grande- San Alfonso |
| <b>ME027</b>           | Sabouraud | 10 <sup>-4</sup> | Durazno | Huachi Grande- San Alfonso |
| <b>ME028</b>           | YPD       | 10 <sup>-4</sup> | Durazno | Montalvo -Palagua          |
| <b>ME029</b>           | YPD       | 10 <sup>-4</sup> | Durazno | Montalvo -Palagua          |
| <b>ME030</b>           | Sabouraud | 10 <sup>-3</sup> | Durazno | Huachi Grande- San Alfonso |
| <b>ME031</b>           | YPD       | 10 <sup>-4</sup> | Manzana | Alobamba – El Triunfo      |
| <b>ME032</b>           | YPD       | 10 <sup>-2</sup> | Fresa   | Montalvo -Palagua          |
| <b>ME033</b>           | YPD       | 10 <sup>-1</sup> | Fresa   | Montalvo -Palagua          |
| <b>ME034</b>           | YPD       | 10 <sup>-3</sup> | Fresa   | Montalvo -Palagua          |
| <b>ME035</b>           | PDA       | 10 <sup>-4</sup> | Fresa   | Tisaleo San Francisco      |
| <b>ME036</b>           | PDA       | 10 <sup>-4</sup> | Fresa   | Tisaleo San Francisco      |
| <b>ME037</b>           | PDA       | 10 <sup>-3</sup> | Fresa   | Huachi Grande- San Alfonso |

....Continuación Tabla C1

| Código de conservación | Medio     | Dilución         | Fruto   | Lugar de Recolección       |
|------------------------|-----------|------------------|---------|----------------------------|
| <b>ME038</b>           | PDA       | 10 <sup>-3</sup> | Fresa   | Huachi Grande- San Alfonso |
| <b>ME039</b>           | YPD       | 10 <sup>-4</sup> | Durazno | Montalvo -Palagua          |
| <b>ME040</b>           | YPD       | 10 <sup>-4</sup> | Durazno | Montalvo -Palagua          |
| <b>ME041</b>           | Sabouraud | 10 <sup>-3</sup> | Durazno | Alobamba – El Triunfo      |
| <b>ME042</b>           | Sabouraud | 10 <sup>-3</sup> | Durazno | Alobamba – El Triunfo      |
| <b>ME043</b>           | YPD       | 10 <sup>-4</sup> | Durazno | Montalvo -Palagua          |
| <b>ME044</b>           | YPD       | 10 <sup>-4</sup> | Durazno | Montalvo -Palagua          |
| <b>ME045</b>           | Sabouraud | 10 <sup>-4</sup> | Durazno | Montalvo -Palagua          |
| <b>ME046</b>           | Sabouraud | 10 <sup>-4</sup> | Durazno | Montalvo -Palagua          |
| <b>ME047</b>           | YPD       | 10 <sup>-4</sup> | Durazno | Montalvo -Palagua          |
| <b>ME048</b>           | YPD       | 10 <sup>-3</sup> | Durazno | Alobamba – El Triunfo      |
| <b>ME049</b>           | YPD       | 10 <sup>-3</sup> | Durazno | Alobamba – El Triunfo      |
| <b>ME050</b>           | YPD       | 10 <sup>-4</sup> | Durazno | Alobamba – El Triunfo      |
| <b>ME051</b>           | YPD       | 10 <sup>-4</sup> | Durazno | Alobamba – El Triunfo      |
| <b>ME052</b>           | YPD       | 10 <sup>-4</sup> | Durazno | Alobamba – El Triunfo      |
| <b>ME053</b>           | YPD       | 10 <sup>-3</sup> | Fresa   | Montalvo -Palagua          |
| <b>ME054</b>           | YPD       | 10 <sup>-4</sup> | Manzana | Alobamba – El Triunfo      |
| <b>ME055</b>           | YPD       | 10 <sup>-3</sup> | Fresa   | Montalvo -Palagua          |
| <b>ME056</b>           | Sabouraud | 10 <sup>-3</sup> | Manzana | Montalvo -Palagua          |
| <b>ME057</b>           | Sabouraud | 10 <sup>-3</sup> | Manzana | Montalvo -Palagua          |
| <b>ME058</b>           | Sabouraud | 10 <sup>-4</sup> | Manzana | Montalvo -Palagua          |
| <b>ME059</b>           | Sabouraud | 10 <sup>-4</sup> | Manzana | Montalvo -Palagua          |
| <b>ME060</b>           | Sabouraud | 10 <sup>-4</sup> | Manzana | Montalvo -Palagua          |
| <b>ME061</b>           | Sabouraud | 10 <sup>-4</sup> | Manzana | Alobamba – El Triunfo      |
| <b>ME062</b>           | Sabouraud | 10 <sup>-4</sup> | Manzana | Alobamba – El Triunfo      |
| <b>ME063</b>           | Sabouraud | 10 <sup>-4</sup> | Manzana | Alobamba – El Triunfo      |
| <b>ME064</b>           | Sabouraud | 10 <sup>-3</sup> | Manzana | Alobamba – El Triunfo      |
| <b>ME065</b>           | Sabouraud | 10 <sup>-3</sup> | Manzana | Alobamba – El Triunfo      |
| <b>ME066</b>           | Sabouraud | 10 <sup>-3</sup> | Manzana | Alobamba – El Triunfo      |
| <b>ME067</b>           | YPD       | 10 <sup>-4</sup> | Manzana | Alobamba – El Triunfo      |
| <b>ME068</b>           | YPD       | 10 <sup>-4</sup> | Manzana | Alobamba – El Triunfo      |
| <b>ME069</b>           | YPD       | 10 <sup>-4</sup> | Manzana | Alobamba – El Triunfo      |
| <b>ME070</b>           | YPD       | 10 <sup>-4</sup> | Fresa   | Huachi Grande- San Alfonso |
| <b>ME071</b>           | PDA       | 10 <sup>-4</sup> | Fresa   | Tisaleo - San Francisco    |
| <b>ME072</b>           | YPD       | 10 <sup>-4</sup> | Fresa   | Tisaleo - San Francisco    |
| <b>ME073</b>           | YPD       | 10 <sup>-4</sup> | Fresa   | Tisaleo - San Francisco    |
| <b>ME074</b>           | YPD       | 10 <sup>-4</sup> | Fresa   | Tisaleo - San Francisco    |

...Continuación Tabla C1

| Código de conservación | Medio | Dilución         | Fruto | Lugar de Recolección       |
|------------------------|-------|------------------|-------|----------------------------|
| <b>ME075</b>           | PDA   | 10 <sup>-4</sup> | Fresa | Tisaleo - San Francisco    |
| <b>ME076</b>           | PDA   | 10 <sup>-4</sup> | Fresa | Tisaleo - San Francisco    |
| <b>ME077</b>           | PDA   | 10 <sup>-4</sup> | Fresa | Tisaleo - San Francisco    |
| <b>ME078</b>           | PDA   | 10 <sup>-4</sup> | Fresa | Tisaleo - San Francisco    |
| <b>ME079</b>           | YPD   | 10 <sup>-4</sup> | Fresa | Tisaleo - San Francisco    |
| <b>ME080</b>           | YPD   | 10 <sup>-3</sup> | Fresa | Tisaleo - San Francisco    |
| <b>ME081</b>           | PDA   | 10 <sup>-4</sup> | Fresa | Tisaleo - San Francisco    |
| <b>ME082</b>           | YPD   | 10 <sup>-2</sup> | Fresa | Tisaleo - San Francisco    |
| <b>ME083</b>           | PDA   | 10 <sup>-3</sup> | Fresa | Tisaleo - San Francisco    |
| <b>ME084</b>           | PDA   | 10 <sup>-3</sup> | Fresa | Tisaleo - San Francisco    |
| <b>ME085</b>           | PDA   | 10 <sup>-2</sup> | Fresa | Tisaleo - San Francisco    |
| <b>ME086</b>           | PDA   | 10 <sup>-2</sup> | Fresa | Tisaleo - San Francisco    |
| <b>ME087</b>           | PDA   | 10 <sup>-2</sup> | Fresa | Tisaleo - San Francisco    |
| <b>ME088</b>           | YPD   | 10 <sup>-2</sup> | Fresa | Tisaleo - San Francisco    |
| <b>ME089</b>           | YPD   | 10 <sup>-2</sup> | Fresa | Tisaleo - San Francisco    |
| <b>ME090</b>           | YPD   | 10 <sup>-3</sup> | Fresa | Tisaleo - San Francisco    |
| <b>ME091</b>           | YPD   | 10 <sup>-3</sup> | Fresa | Tisaleo - San Francisco    |
| <b>ME092</b>           | YPD   | 10 <sup>-3</sup> | Fresa | Tisaleo - San Francisco    |
| <b>ME093</b>           | YPD   | 10 <sup>-3</sup> | Fresa | Tisaleo - San Francisco    |
| <b>ME094</b>           | YPD   | 10 <sup>-4</sup> | Fresa | Huachi Grande- San Alfonso |

**Tabla C2.** Datos obtenidos de la población de levaduras

| Tratamiento | Lugar                          | YPD      |     |          |     | SABOURAUD |     |          |     |
|-------------|--------------------------------|----------|-----|----------|-----|-----------|-----|----------|-----|
|             |                                | Dilución | R1  | Dilución | R2  | Dilución  | R1  | Dilución | R2  |
| <b>D1</b>   | Montalvo -Palagua              | 1,00E+03 | 61  |          |     | 1,00E+03  | 70  |          |     |
| <b>D2</b>   | Huachi Grande- San Alfonso     | 1,00E+04 | 280 |          |     | 1,00E+04  | 290 |          |     |
| <b>D3</b>   | Tisaleo -Caserío San Francisco | 1,00E+04 | 100 | 1,00E+04 | 370 | 1,00E+04  | 30  | 1,00E+04 | 300 |
| <b>F1</b>   | Montalvo-Palagua               | 1,00E+04 | 110 | 1,00E+02 | 81  |           |     |          |     |
| <b>F2</b>   | Huachi Grande- San Alfonso     |          |     |          |     |           |     |          |     |
| <b>F3</b>   | Tisaleo -Caserío San Francisco | 1,00E+03 | 24  | 1,00E+03 | 120 |           |     |          |     |
| <b>M1</b>   | Montalvo-Palagua               |          |     |          |     |           |     |          |     |
| <b>M2</b>   | Huachi Grande- San Alfonso     |          |     |          |     |           |     |          |     |
| <b>M3</b>   | Tisaleo -Caserío San Francisco | 1,00E+04 | 66  |          |     | 1,00E+04  | 85  |          |     |

**Tabla C3.** Matriz binaria de datos fenotípicos caracterización macroscópica de levaduras aisladas

| Código | Margen |     |     | Elevación |     |     | Superficie |     |     |     | Brillo |     | Textura |     |     |     | Color |       |     |      |     |        |
|--------|--------|-----|-----|-----------|-----|-----|------------|-----|-----|-----|--------|-----|---------|-----|-----|-----|-------|-------|-----|------|-----|--------|
|        | Ent    | Ond | Riz | Pla       | Con | Umb | Lis        | Rug | Ple | Fil | Bri    | Opa | Muc     | But | Fri | Man | L.stn | Beige | Bis | Vell | Whi | L.buff |
| ME001  | 0      | 1   | 0   | 1         | 0   | 0   | 0          | 1   | 0   | 0   | 0      | 1   | 0       | 1   | 0   | 1   | 0     | 0     | 0   | 0    | 0   | 0      |
| ME002  | 0      | 1   | 0   | 1         | 0   | 0   | 0          | 1   | 0   | 0   | 0      | 1   | 0       | 1   | 0   | 0   | 1     | 0     | 0   | 0    | 0   | 0      |
| ME003  | 0      | 1   | 0   | 1         | 0   | 0   | 0          | 1   | 0   | 0   | 0      | 1   | 0       | 1   | 0   | 0   | 1     | 0     | 0   | 0    | 0   | 0      |
| ME004  | 0      | 0   | 1   | 1         | 0   | 0   | 0          | 0   | 0   | 1   | 0      | 1   | 0       | 0   | 1   | 0   | 0     | 0     | 0   | 0    | 1   | 0      |
| ME005  | 0      | 1   | 0   | 1         | 0   | 0   | 0          | 1   | 0   | 0   | 0      | 1   | 0       | 1   | 0   | 0   | 1     | 0     | 0   | 0    | 0   | 0      |
| ME006  | 0      | 1   | 0   | 1         | 0   | 0   | 0          | 1   | 0   | 0   | 0      | 1   | 0       | 1   | 0   | 0   | 1     | 0     | 0   | 0    | 0   | 0      |
| ME007  | 0      | 1   | 0   | 1         | 0   | 0   | 0          | 0   | 1   | 0   | 0      | 1   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 1     | 0   | 0    | 0   | 0      |
| ME008  | 0      | 0   | 1   | 0         | 1   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 1      | 0   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 0     | 0   | 0    | 1   | 0      |
| ME009  | 0      | 1   | 0   | 1         | 0   | 0   | 0          | 1   | 0   | 0   | 0      | 1   | 0       | 1   | 0   | 0   | 1     | 0     | 0   | 0    | 0   | 0      |
| ME010  | 1      | 0   | 0   | 0         | 1   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 1      | 0   | 1       | 0   | 0   | 0   | 0     | 0     | 1   | 0    | 0   | 0      |
| ME011  | 1      | 0   | 0   | 1         | 0   | 0   | 0          | 0   | 1   | 0   | 0      | 1   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 1     | 0   | 0    | 0   | 0      |
| ME012  | 0      | 0   | 1   | 0         | 1   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 1      | 0   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 0     | 0   | 0    | 1   | 0      |
| ME013  | 1      | 0   | 0   | 1         | 0   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 0      | 1   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 0     | 0   | 0    | 1   | 0      |
| ME014  | 1      | 0   | 0   | 0         | 1   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 0      | 1   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 0     | 0   | 0    | 1   | 0      |
| ME015  | 1      | 0   | 0   | 0         | 1   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 0      | 1   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 0     | 0   | 0    | 1   | 0      |
| ME016  | 0      | 1   | 0   | 1         | 0   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 0      | 1   | 0       | 1   | 0   | 0   | 1     | 0     | 0   | 0    | 0   | 0      |
| ME017  | 0      | 1   | 0   | 0         | 1   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 0      | 1   | 0       | 1   | 0   | 1   | 0     | 0     | 0   | 0    | 0   | 0      |
| ME018  | 0      | 0   | 1   | 0         | 1   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 0      | 1   | 0       | 1   | 0   | 1   | 0     | 0     | 0   | 0    | 0   | 0      |
| ME019  | 0      | 0   | 1   | 0         | 1   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 0      | 1   | 0       | 1   | 0   | 1   | 0     | 0     | 0   | 0    | 0   | 0      |
| ME020  | 0      | 1   | 0   | 0         | 0   | 1   | 1          | 0   | 0   | 0   | 0      | 1   | 0       | 1   | 0   | 1   | 0     | 0     | 0   | 0    | 0   | 0      |

...Continuación Tabla C3

| Código | Margen |     |     | Elevación |     |     | Superficie |     |     |     | Brillo |     | Textura |     |     |     | Color |       |     |      |     |        |
|--------|--------|-----|-----|-----------|-----|-----|------------|-----|-----|-----|--------|-----|---------|-----|-----|-----|-------|-------|-----|------|-----|--------|
|        | Ent    | Ond | Riz | Pla       | Con | Umb | Lis        | Rug | Ple | Fil | Bri    | Opa | Muc     | But | Fri | Man | L.stn | Beige | Bis | Vell | Whi | L.buff |
| ME021  | 1      | 0   | 0   | 0         | 0   | 1   | 0          | 1   | 0   | 0   | 0      | 1   | 0       | 1   | 0   | 1   | 0     | 0     | 0   | 0    | 0   | 0      |
| ME022  | 1      | 0   | 0   | 1         | 0   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 1      | 0   | 0       | 1   | 0   | 1   | 0     | 0     | 0   | 0    | 0   | 0      |
| ME023  | 1      | 0   | 0   | 0         | 1   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 1      | 0   | 0       | 1   | 0   | 1   | 0     | 0     | 0   | 0    | 0   | 0      |
| ME024  | 0      | 1   | 0   | 0         | 1   | 0   | 0          | 1   | 0   | 0   | 0      | 1   | 0       | 1   | 0   | 1   | 0     | 0     | 0   | 0    | 0   | 0      |
| ME025  | 0      | 1   | 0   | 0         | 1   | 0   | 0          | 1   | 0   | 0   | 0      | 1   | 0       | 0   | 1   | 0   | 0     | 0     | 0   | 0    | 1   | 0      |
| ME026  | 1      | 0   | 0   | 1         | 0   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 0      | 1   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 0     | 0   | 0    | 1   | 0      |
| ME027  | 0      | 1   | 0   | 1         | 0   | 0   | 0          | 1   | 0   | 0   | 0      | 1   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 0     | 0   | 1    | 0   | 0      |
| ME028  | 0      | 1   | 0   | 1         | 0   | 0   | 0          | 0   | 1   | 0   | 0      | 1   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 0     | 0   | 1    | 0   | 0      |
| ME029  | 0      | 1   | 0   | 1         | 0   | 0   | 0          | 1   | 0   | 0   | 0      | 1   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 0     | 0   | 1    | 0   | 0      |
| ME030  | 0      | 1   | 0   | 1         | 0   | 0   | 0          | 1   | 0   | 0   | 1      | 0   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 0     | 0   | 1    | 0   | 0      |
| ME031  | 1      | 0   | 0   | 1         | 0   | 0   | 0          | 1   | 0   | 0   | 1      | 0   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 0     | 0   | 0    | 1   | 0      |
| ME032  | 1      | 0   | 0   | 1         | 0   | 0   | 0          | 1   | 0   | 0   | 1      | 0   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 0     | 1   | 0    | 0   | 0      |
| ME033  | 1      | 0   | 0   | 1         | 0   | 0   | 0          | 1   | 0   | 0   | 1      | 0   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 0     | 1   | 0    | 0   | 0      |
| ME034  | 1      | 0   | 0   | 1         | 0   | 0   | 0          | 1   | 0   | 0   | 1      | 0   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 0     | 0   | 1    | 0   | 0      |
| ME035  | 1      | 0   | 0   | 1         | 0   | 0   | 0          | 1   | 0   | 0   | 0      | 1   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 0     | 0   | 0    | 1   | 0      |
| ME036  | 0      | 1   | 0   | 1         | 0   | 0   | 0          | 1   | 0   | 0   | 0      | 1   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 0     | 0   | 0    | 1   | 0      |
| ME037  | 1      | 0   | 0   | 0         | 1   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 1      | 0   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 0     | 0   | 1    | 0   | 0      |
| ME038  | 0      | 0   | 1   | 0         | 0   | 1   | 0          | 1   | 0   | 0   | 0      | 1   | 0       | 0   | 1   | 0   | 0     | 0     | 0   | 0    | 1   | 0      |
| ME039  | 1      | 0   | 0   | 1         | 0   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 1      | 0   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 0     | 0   | 1    | 0   | 0      |
| ME040  | 1      | 0   | 0   | 1         | 0   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 1      | 0   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 0     | 1   | 0    | 0   | 0      |

...Continuación Tabla C3

| Código       | Margen |     |     | Elevación |     |     | Superficie |     |     |     | Brillo |     | Textura |     |     |     | Color |       |     |      |     |        |
|--------------|--------|-----|-----|-----------|-----|-----|------------|-----|-----|-----|--------|-----|---------|-----|-----|-----|-------|-------|-----|------|-----|--------|
|              | Ent    | Ond | Riz | Pla       | Con | Umb | Lis        | Rug | Ple | Fil | Bri    | Opa | Muc     | But | Fri | Man | L.stn | Beige | Bis | Vell | Whi | L.buff |
| <b>ME041</b> | 1      | 0   | 0   | 0         | 1   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 1      | 0   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 0     | 0   | 0    | 1   | 0      |
| <b>ME042</b> | 1      | 0   | 0   | 1         | 0   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 1      | 0   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 0     | 0   | 1    | 0   | 0      |
| <b>ME043</b> | 1      | 0   | 0   | 1         | 0   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 1      | 0   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 0     | 0   | 1    | 0   | 0      |
| <b>ME044</b> | 1      | 0   | 0   | 0         | 1   | 0   | 0          | 0   | 1   | 0   | 0      | 1   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 1     | 0   | 0    | 0   | 0      |
| <b>ME045</b> | 1      | 0   | 0   | 0         | 0   | 1   | 1          | 0   | 0   | 0   | 0      | 1   | 0       | 1   | 0   | 0   | 1     | 0     | 0   | 0    | 0   | 0      |
| <b>ME046</b> | 1      | 0   | 0   | 0         | 0   | 1   | 1          | 0   | 0   | 0   | 0      | 1   | 0       | 1   | 0   | 0   | 1     | 0     | 0   | 0    | 0   | 0      |
| <b>ME047</b> | 0      | 1   | 0   | 0         | 0   | 1   | 0          | 1   | 0   | 0   | 0      | 1   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 1     | 0   | 0    | 0   | 0      |
| <b>ME048</b> | 1      | 0   | 0   | 0         | 0   | 1   | 0          | 1   | 0   | 0   | 0      | 1   | 0       | 1   | 0   | 0   | 1     | 0     | 0   | 0    | 0   | 0      |
| <b>ME049</b> | 1      | 0   | 0   | 0         | 0   | 1   | 0          | 1   | 0   | 0   | 0      | 1   | 0       | 1   | 0   | 0   | 1     | 0     | 0   | 0    | 0   | 0      |
| <b>ME050</b> | 1      | 0   | 0   | 1         | 0   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 1      | 0   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 0     | 0   | 0    | 1   | 0      |
| <b>ME051</b> | 0      | 1   | 0   | 0         | 0   | 1   | 0          | 1   | 0   | 0   | 0      | 1   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 1     | 0   | 0    | 0   | 0      |
| <b>ME052</b> | 1      | 0   | 0   | 0         | 1   | 0   | 0          | 1   | 0   | 0   | 0      | 1   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 1     | 0   | 0    | 0   | 0      |
| <b>ME053</b> | 1      | 0   | 0   | 1         | 0   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 1      | 0   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 1     | 0   | 0    | 0   | 0      |
| <b>ME054</b> | 1      | 0   | 0   | 0         | 1   | 0   | 0          | 1   | 0   | 0   | 0      | 1   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 1     | 0   | 0    | 0   | 0      |
| <b>ME055</b> | 1      | 0   | 0   | 1         | 0   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 0      | 1   | 0       | 1   | 0   | 0   | 1     | 0     | 0   | 0    | 0   | 0      |
| <b>ME056</b> | 1      | 0   | 0   | 0         | 0   | 1   | 0          | 1   | 0   | 0   | 0      | 1   | 0       | 1   | 0   | 0   | 1     | 0     | 0   | 0    | 0   | 0      |
| <b>ME057</b> | 1      | 0   | 0   | 1         | 0   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 1      | 0   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 0     | 0   | 1    | 0   | 0      |
| <b>ME058</b> | 1      | 0   | 0   | 0         | 0   | 1   | 0          | 1   | 0   | 0   | 0      | 1   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 0     | 0   | 0    | 1   | 0      |
| <b>ME059</b> | 0      | 1   | 0   | 0         | 0   | 1   | 0          | 1   | 0   | 0   | 0      | 1   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 0     | 0   | 0    | 1   | 0      |
| <b>ME060</b> | 1      | 0   | 0   | 0         | 1   | 0   | 0          | 1   | 0   | 0   | 1      | 0   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 0     | 0   | 0    | 1   | 0      |

...Continuación Tabla C3

| Código       | Margen |     |     | Elevación |     |     | Superficie |     |     |     | Brillo |     | Textura |     |     |     | Color |       |     |      |     |        |
|--------------|--------|-----|-----|-----------|-----|-----|------------|-----|-----|-----|--------|-----|---------|-----|-----|-----|-------|-------|-----|------|-----|--------|
|              | Ent    | Ond | Riz | Pla       | Con | Umb | Lis        | Rug | Ple | Fil | Bri    | Opa | Muc     | But | Fri | Man | L.stn | Beige | Bis | Vell | Whi | L.buff |
| <b>ME061</b> | 1      | 0   | 0   | 0         | 1   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 1      | 0   | 0       | 1   | 0   | 0   | 1     | 0     | 0   | 0    | 0   | 0      |
| <b>ME062</b> | 1      | 0   | 0   | 0         | 1   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 0      | 1   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 1     | 0   | 0    | 0   | 0      |
| <b>ME063</b> | 1      | 0   | 0   | 0         | 1   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 0      | 1   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 1     | 0   | 0    | 0   | 0      |
| <b>ME064</b> | 1      | 0   | 0   | 0         | 1   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 0      | 1   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 1     | 0   | 0    | 0   | 0      |
| <b>ME065</b> | 1      | 0   | 0   | 0         | 1   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 0      | 1   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 1     | 0   | 0    | 0   | 0      |
| <b>ME066</b> | 1      | 0   | 0   | 0         | 1   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 0      | 1   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 1     | 0   | 0    | 0   | 0      |
| <b>ME067</b> | 1      | 0   | 0   | 1         | 0   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 0      | 1   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 1     | 0   | 0    | 0   | 0      |
| <b>ME068</b> | 1      | 0   | 0   | 1         | 0   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 0      | 1   | 0       | 1   | 0   | 1   | 0     | 0     | 0   | 0    | 0   | 0      |
| <b>ME069</b> | 1      | 0   | 0   | 0         | 1   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 0      | 1   | 0       | 1   | 0   | 0   | 1     | 0     | 0   | 0    | 0   | 0      |
| <b>ME070</b> | 0      | 1   | 0   | 0         | 1   | 0   | 0          | 1   | 0   | 0   | 0      | 1   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 0     | 0   | 0    | 1   | 0      |
| <b>ME071</b> | 1      | 0   | 0   | 1         | 0   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 1      | 0   | 0       | 1   | 0   | 1   | 0     | 0     | 0   | 0    | 0   | 0      |
| <b>ME072</b> | 1      | 0   | 0   | 1         | 0   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 1      | 0   | 0       | 1   | 0   | 1   | 0     | 0     | 0   | 0    | 0   | 0      |
| <b>ME073</b> | 1      | 0   | 0   | 1         | 0   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 1      | 0   | 0       | 1   | 0   | 1   | 0     | 0     | 0   | 0    | 0   | 0      |
| <b>ME074</b> | 1      | 0   | 0   | 1         | 0   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 0      | 1   | 0       | 1   | 0   | 1   | 0     | 0     | 0   | 0    | 0   | 0      |
| <b>ME075</b> | 1      | 0   | 0   | 0         | 1   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 0      | 1   | 0       | 1   | 0   | 1   | 0     | 0     | 0   | 0    | 0   | 0      |
| <b>ME076</b> | 0      | 1   | 0   | 1         | 0   | 0   | 0          | 1   | 0   | 0   | 0      | 1   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 1     | 0   | 0    | 0   | 0      |
| <b>ME077</b> | 1      | 0   | 0   | 1         | 0   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 0      | 1   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 1     | 0   | 0    | 0   | 0      |
| <b>ME078</b> | 1      | 0   | 0   | 0         | 1   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 1      | 0   | 0       | 1   | 0   | 1   | 0     | 0     | 0   | 0    | 0   | 0      |
| <b>ME079</b> | 1      | 0   | 0   | 1         | 0   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 0      | 1   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 1     | 0   | 0    | 0   | 0      |
| <b>ME080</b> | 1      | 0   | 0   | 0         | 1   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 1      | 0   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 0     | 0   | 0    | 1   | 0      |



...Continuación Tabla C3

| Código       | Margen |     |     | Elevación |     |     | Superficie |     |     |     | Brillo |     | Textura |     |     |     | Color |       |     |      |     |        |
|--------------|--------|-----|-----|-----------|-----|-----|------------|-----|-----|-----|--------|-----|---------|-----|-----|-----|-------|-------|-----|------|-----|--------|
|              | Ent    | Ond | Riz | Pla       | Con | Umb | Lis        | Rug | Ple | Fil | Bri    | Opa | Muc     | But | Fri | Man | L.stn | Beige | Bis | Vell | Whi | L.buff |
| <b>ME081</b> | 1      | 0   | 0   | 0         | 1   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 0      | 1   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 1     | 0   | 0    | 0   | 0      |
| <b>ME082</b> | 1      | 0   | 0   | 0         | 1   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 1      | 0   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 0     | 0   | 0    | 1   | 0      |
| <b>ME083</b> | 1      | 0   | 0   | 0         | 1   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 1      | 0   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 0     | 0   | 0    | 1   | 0      |
| <b>ME084</b> | 1      | 0   | 0   | 0         | 1   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 1      | 0   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 0     | 0   | 0    | 1   | 0      |
| <b>ME085</b> | 1      | 0   | 0   | 1         | 0   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 1      | 0   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 0     | 0   | 0    | 1   | 0      |
| <b>ME086</b> | 1      | 0   | 0   | 1         | 0   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 1      | 0   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 0     | 0   | 0    | 1   | 0      |
| <b>ME087</b> | 1      | 0   | 0   | 0         | 1   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 1      | 0   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 0     | 0   | 0    | 1   | 0      |
| <b>ME088</b> | 1      | 0   | 0   | 0         | 1   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 1      | 0   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 0     | 0   | 0    | 1   | 0      |
| <b>ME089</b> | 1      | 0   | 0   | 0         | 1   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 1      | 0   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 0     | 0   | 0    | 1   | 0      |
| <b>ME090</b> | 1      | 0   | 0   | 0         | 1   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 1      | 0   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 0     | 0   | 0    | 1   | 0      |
| <b>ME091</b> | 1      | 0   | 0   | 1         | 0   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 1      | 0   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 0     | 0   | 0    | 1   | 0      |
| <b>ME092</b> | 1      | 0   | 0   | 0         | 1   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 1      | 0   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 0     | 0   | 0    | 1   | 0      |
| <b>ME093</b> | 1      | 0   | 0   | 1         | 0   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 1      | 0   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 0     | 0   | 0    | 1   | 0      |
| <b>ME094</b> | 1      | 0   | 0   | 1         | 0   | 0   | 1          | 0   | 0   | 0   | 1      | 0   | 0       | 1   | 0   | 0   | 0     | 0     | 0   | 0    | 1   | 0      |

**Tabla C4.** Matriz binaria de datos fenotípicos caracterización microscópica de levaduras aisladas

| Código | Circular | Ovalada | Cilíndrica | Ancho $\mu\text{m}$ | Largo $\mu\text{m}$ |
|--------|----------|---------|------------|---------------------|---------------------|
| ME001  | 0        | 1       | 0          | 2                   | 4                   |
| ME002  | 0        | 1       | 0          | 2                   | 10                  |
| ME003  | 0        | 0       | 1          | 3                   | 8                   |
| ME004  | 0        | 0       | 1          | 2                   | 4                   |
| ME005  | 0        | 0       | 1          | 2                   | 3                   |
| ME006  | 0        | 0       | 1          | 3                   | 10                  |
| ME007  | 0        | 1       | 0          | 2                   | 4                   |
| ME008  | 0        | 1       | 0          | 3                   | 9                   |
| ME009  | 0        | 1       | 0          | 2                   | 4                   |
| ME010  | 0        | 0       | 1          | 2                   | 3                   |
| ME011  | 0        | 1       | 0          | 3                   | 8                   |
| ME012  | 0        | 1       | 0          | 3                   | 10                  |
| ME013  | 0        | 1       | 0          | 2                   | 3                   |
| ME014  | 1        | 0       | 0          | 2                   | 5                   |
| ME015  | 1        | 0       | 0          | 2                   | 5                   |
| ME016  | 1        | 0       | 0          | 2                   | 2                   |
| ME017  | 0        | 1       | 0          | 3                   | 5                   |
| ME018  | 1        | 0       | 0          | 3                   | 5                   |
| ME019  | 0        | 1       | 0          | 3                   | 5                   |
| ME020  | 0        | 1       | 0          | 3                   | 6                   |
| ME021  | 0        | 1       | 0          | 4                   | 6                   |
| ME022  | 0        | 1       | 0          | 2                   | 3                   |
| ME023  | 1        | 0       | 0          | 2                   | 3                   |
| ME024  | 0        | 1       | 0          | 2                   | 4                   |
| ME025  | 0        | 0       | 1          | 4                   | 9                   |
| ME026  | 0        | 1       | 0          | 2                   | 2                   |
| ME027  | 1        | 0       | 0          | 2                   | 3                   |
| ME028  | 0        | 1       | 0          | 4                   | 5                   |
| ME029  | 0        | 1       | 0          | 2                   | 3                   |
| ME030  | 1        | 0       | 0          | 4                   | 1                   |
| ME031  | 0        | 1       | 0          | 2                   | 5                   |
| ME032  | 0        | 1       | 0          | 1                   | 2                   |
| ME033  | 0        | 1       | 0          | 1                   | 2                   |
| ME034  | 0        | 1       | 0          | 1                   | 2                   |
| ME035  | 1        | 0       | 0          | 1                   | 2                   |
| ME036  | 1        | 0       | 0          | 1                   | 2                   |
| ME037  | 0        | 1       | 0          | 2                   | 3                   |
| ME038  | 0        | 1       | 0          | 2                   | 3                   |
| ME039  | 0        | 1       | 0          | 1                   | 2                   |
| ME040  | 0        | 1       | 0          | 3                   | 3                   |

...Continuación Tabla C4

| Código       | Circular | Ovalada | Cilíndrica | Ancho $\mu\text{m}$ | Largo $\mu\text{m}$ |
|--------------|----------|---------|------------|---------------------|---------------------|
| <b>ME041</b> | 1        | 0       | 0          | 2                   | 6                   |
| <b>ME042</b> | 0        | 1       | 0          | 3                   | 3                   |
| <b>ME043</b> | 0        | 1       | 0          | 3                   | 7                   |
| <b>ME044</b> | 0        | 1       | 0          | 2                   | 4                   |
| <b>ME045</b> | 0        | 1       | 0          | 2                   | 5                   |
| <b>ME046</b> | 0        | 0       | 1          | 2                   | 6                   |
| <b>ME047</b> | 0        | 0       | 1          | 2                   | 9                   |
| <b>ME048</b> | 0        | 0       | 1          | 3                   | 5                   |
| <b>ME049</b> | 0        | 0       | 1          | 2                   | 8                   |
| <b>ME050</b> | 1        | 0       | 0          | 2                   | 7                   |
| <b>ME051</b> | 0        | 0       | 1          | 2                   | 3                   |
| <b>ME052</b> | 0        | 0       | 1          | 2                   | 5                   |
| <b>ME053</b> | 1        | 0       | 0          | 1                   | 2                   |
| <b>ME054</b> | 0        | 1       | 0          | 1                   | 2                   |
| <b>ME055</b> | 1        | 0       | 0          | 1                   | 2                   |
| <b>ME056</b> | 0        | 0       | 1          | 2                   | 4                   |
| <b>ME057</b> | 1        | 0       | 0          | 2                   | 3                   |
| <b>ME058</b> | 0        | 1       | 0          | 2                   | 3                   |
| <b>ME059</b> | 1        | 0       | 0          | 2                   | 5                   |
| <b>ME060</b> | 1        | 0       | 0          | 2                   | 6                   |
| <b>ME061</b> | 0        | 1       | 0          | 2                   | 3                   |
| <b>ME062</b> | 0        | 1       | 0          | 3                   | 4                   |
| <b>ME063</b> | 0        | 0       | 1          | 2                   | 3                   |
| <b>ME064</b> | 0        | 1       | 0          | 2                   | 5                   |
| <b>ME065</b> | 0        | 1       | 0          | 2                   | 4                   |
| <b>ME066</b> | 0        | 0       | 1          | 2                   | 3                   |
| <b>ME067</b> | 0        | 1       | 0          | 2                   | 3                   |
| <b>ME068</b> | 0        | 1       | 0          | 2                   | 4                   |
| <b>ME069</b> | 0        | 0       | 1          | 2                   | 3                   |
| <b>ME070</b> | 0        | 0       | 1          | 3                   | 4                   |
| <b>ME071</b> | 1        | 0       | 0          | 4                   | 5                   |
| <b>ME072</b> | 1        | 0       | 0          | 2                   | 2                   |
| <b>ME073</b> | 1        | 0       | 0          | 3                   | 2                   |
| <b>ME074</b> | 1        | 0       | 0          | 3                   | 3                   |
| <b>ME075</b> | 0        | 1       | 0          | 3                   | 3                   |
| <b>ME076</b> | 0        | 1       | 0          | 3                   | 5                   |
| <b>ME077</b> | 0        | 1       | 0          | 3                   | 6                   |
| <b>ME078</b> | 0        | 1       | 0          | 2                   | 5                   |
| <b>ME079</b> | 0        | 1       | 0          | 2                   | 6                   |
| <b>ME080</b> | 1        | 0       | 0          | 3                   | 7                   |

...Continuación Tabla C4

| Código       | Circular | Ovalada | Cilíndrica | Ancho $\mu\text{m}$ | Largo $\mu\text{m}$ |
|--------------|----------|---------|------------|---------------------|---------------------|
| <b>ME081</b> | 0        | 1       | 0          | 4                   | 5                   |
| <b>ME082</b> | 1        | 0       | 0          | 4                   | 3                   |
| <b>ME083</b> | 1        | 0       | 0          | 4                   | 3                   |
| <b>ME084</b> | 1        | 0       | 0          | 4                   | 2                   |
| <b>ME085</b> | 1        | 0       | 0          | 4                   | 5                   |
| <b>ME086</b> | 1        | 0       | 0          | 4                   | 3                   |
| <b>ME087</b> | 1        | 0       | 0          | 4                   | 4                   |
| <b>ME088</b> | 1        | 0       | 0          | 3                   | 5                   |
| <b>ME089</b> | 1        | 0       | 0          | 2                   | 6                   |
| <b>ME090</b> | 1        | 0       | 0          | 2                   | 7                   |
| <b>ME091</b> | 1        | 0       | 0          | 3                   | 8                   |
| <b>ME092</b> | 1        | 0       | 0          | 4                   | 3                   |
| <b>ME093</b> | 1        | 0       | 0          | 2                   | 3                   |
| <b>ME094</b> | 0        | 1       | 0          | 2                   | 4                   |

**Tabla C5.** Matriz binaria de datos de pruebas de temperatura levaduras aisladas

| <b>Código</b> | <b>4 °C</b> | <b>10 °C</b> | <b>27 °C</b> | <b>37 °C</b> | <b>50 °C</b> | <b>Clasificación</b> |
|---------------|-------------|--------------|--------------|--------------|--------------|----------------------|
| <b>ME001</b>  | 1           | 1            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME002</b>  | 1           | 1            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME003</b>  | 1           | 1            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME004</b>  | 1           | 1            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME005</b>  | 1           | 1            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME006</b>  | 1           | 1            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME007</b>  | 1           | 1            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME008</b>  | 1           | 1            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME009</b>  | 1           | 1            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME010</b>  | 0           | 0            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME011</b>  | 0           | 0            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME012</b>  | 1           | 1            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME013</b>  | 0           | 0            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME014</b>  | 1           | 1            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME015</b>  | 0           | 0            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME016</b>  | 0           | 0            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME017</b>  | 1           | 1            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME018</b>  | 1           | 1            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME019</b>  | 1           | 1            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME020</b>  | 1           | 1            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME021</b>  | 1           | 1            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME022</b>  | 1           | 1            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME023</b>  | 1           | 1            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME024</b>  | 1           | 1            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME025</b>  | 1           | 1            | 1            | 1            | 0            | Mesófilo extremo     |
| <b>ME026</b>  | 1           | 1            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME027</b>  | 0           | 0            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME028</b>  | 0           | 0            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME029</b>  | 0           | 0            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME030</b>  | 0           | 0            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME031</b>  | 0           | 0            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME032</b>  | 0           | 0            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME033</b>  | 0           | 0            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME034</b>  | 0           | 0            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME035</b>  | 0           | 0            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME036</b>  | 1           | 1            | 1            | 1            | 1            | Mesófilo extremo     |
| <b>ME037</b>  | 0           | 0            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME038</b>  | 0           | 0            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME039</b>  | 0           | 0            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME040</b>  | 0           | 0            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |

...Continuación Tabla C5

| <b>Código</b> | <b>4 °C</b> | <b>10 °C</b> | <b>27 °C</b> | <b>37 °C</b> | <b>50 °C</b> | <b>Clasificación</b> |
|---------------|-------------|--------------|--------------|--------------|--------------|----------------------|
| <b>ME041</b>  | 1           | 1            | 1            | 1            | 1            | Mesófilo extremo     |
| <b>ME042</b>  | 0           | 0            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME043</b>  | 0           | 0            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME044</b>  | 1           | 1            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME045</b>  | 1           | 1            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME046</b>  | 1           | 1            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME047</b>  | 1           | 1            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME048</b>  | 1           | 1            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME049</b>  | 1           | 1            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME050</b>  | 1           | 1            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME051</b>  | 1           | 1            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME052</b>  | 1           | 1            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME053</b>  | 0           | 0            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME054</b>  | 0           | 0            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME055</b>  | 0           | 1            | 1            | 0            | 0            | Psicrótrofo          |
| <b>ME056</b>  | 1           | 1            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME057</b>  | 0           | 0            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME058</b>  | 1           | 1            | 1            | 1            | 0            | Mesófilo extremo     |
| <b>ME059</b>  | 1           | 1            | 1            | 1            | 0            | Mesófilo extremo     |
| <b>ME060</b>  | 1           | 1            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME061</b>  | 1           | 1            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME062</b>  | 1           | 1            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME063</b>  | 1           | 1            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME064</b>  | 1           | 1            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME065</b>  | 1           | 1            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME066</b>  | 1           | 1            | 1            | 1            | 0            | Mesófilo extremo     |
| <b>ME067</b>  | 0           | 0            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME068</b>  | 0           | 0            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME069</b>  | 1           | 1            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME070</b>  | 1           | 1            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME071</b>  | 1           | 1            | 1            | 1            | 1            | Mesófilo extremo     |
| <b>ME072</b>  | 1           | 1            | 1            | 1            | 0            | Mesófilo extremo     |
| <b>ME073</b>  | 1           | 1            | 1            | 0            | 0            | Mesófilo             |
| <b>ME074</b>  | 1           | 1            | 1            | 1            | 0            | Mesófilo extremo     |
| <b>ME075</b>  | 1           | 1            | 1            | 1            | 0            | Mesófilo extremo     |
| <b>ME076</b>  | 1           | 1            | 1            | 1            | 0            | Mesófilo extremo     |
| <b>ME077</b>  | 1           | 1            | 1            | 1            | 0            | Mesófilo extremo     |
| <b>ME078</b>  | 1           | 1            | 1            | 1            | 0            | Mesófilo extremo     |
| <b>ME079</b>  | 1           | 1            | 1            | 1            | 0            | Mesófilo extremo     |
| <b>ME080</b>  | 1           | 1            | 1            | 1            | 0            | Mesófilo extremo     |

....Continuación Tabla C5

| Código       | 4 °C | 10 °C | 27 °C | 37 °C | 50 °C | Clasificación    |
|--------------|------|-------|-------|-------|-------|------------------|
| <b>ME081</b> | 1    | 1     | 1     | 1     | 0     | Mesófilo extremo |
| <b>ME082</b> | 1    | 1     | 1     | 1     | 1     | Mesófilo extremo |
| <b>ME083</b> | 1    | 1     | 1     | 1     | 1     | Mesófilo extremo |
| <b>ME084</b> | 1    | 1     | 1     | 1     | 1     | Mesófilo extremo |
| <b>ME085</b> | 1    | 1     | 1     | 1     | 0     | Mesófilo extremo |
| <b>ME086</b> | 1    | 1     | 1     | 1     | 1     | Mesófilo extremo |
| <b>ME087</b> | 1    | 1     | 1     | 1     | 0     | Mesófilo extremo |
| <b>ME088</b> | 1    | 1     | 1     | 1     | 0     | Mesófilo extremo |
| <b>ME089</b> | 1    | 1     | 1     | 1     | 0     | Mesófilo extremo |
| <b>ME090</b> | 1    | 1     | 1     | 1     | 0     | Mesófilo extremo |
| <b>ME091</b> | 1    | 1     | 1     | 1     | 0     | Mesófilo extremo |
| <b>ME092</b> | 1    | 1     | 1     | 1     | 0     | Mesófilo extremo |
| <b>ME093</b> | 1    | 1     | 1     | 1     | 0     | Mesófilo extremo |
| <b>ME094</b> | 1    | 1     | 1     | 1     | 0     | Mesófilo extremo |

**Tabla C6.** Matriz binaria de datos de pruebas de pH levaduras aisladas

| <b>Código</b> | <b>Control</b> | <b>3.5</b> | <b>4.5</b> | <b>5.5</b> | <b>6.5</b> | <b>7.5</b> | <b>8.5</b> | <b>9.5</b> | <b>Clasificación</b> |
|---------------|----------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|----------------------|
| <b>ME001</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | 0          | 0          | Acidófilo            |
| <b>ME002</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME003</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | 0          | 0          | Acidófilo            |
| <b>ME004</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | 0          | 0          | Acidófilo            |
| <b>ME005</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME006</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME007</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME008</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | Alcalitolerante      |
| <b>ME009</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | 0          | 0          | Acidófilo            |
| <b>ME010</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME011</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME012</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME013</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME014</b>  | 1              | 0          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME015</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | 0          | 0          | Acidófilo            |
| <b>ME016</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | 0          | 0          | Acidófilo            |
| <b>ME017</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | 0          | 0          | Acidófilo            |
| <b>ME018</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME019</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME020</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME021</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME022</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME023</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | Alcalitolerante      |
| <b>ME024</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME025</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME026</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME027</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME028</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME029</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | 0          | 0          | Acidófilo            |
| <b>ME030</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | 0          | 0          | Acidófilo            |
| <b>ME031</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | 0          | 0          | Acidófilo            |
| <b>ME032</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | 0          | 0          | Acidófilo            |
| <b>ME033</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | 0          | 0          | Acidófilo            |
| <b>ME034</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | 0          | 0          | Acidófilo            |
| <b>ME035</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME036</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | Alcalitolerante      |
| <b>ME037</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | 0          | 0          | Acidófilo            |
| <b>ME038</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME039</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | 0          | 0          | Acidófilo            |
| <b>ME040</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | 0          | 0          | Acidófilo            |



....Continuación Tabla C6

| <b>Código</b> | <b>Control</b> | <b>3.5</b> | <b>4.5</b> | <b>5.5</b> | <b>6.5</b> | <b>7.5</b> | <b>8.5</b> | <b>9.5</b> | <b>Clasificación</b> |
|---------------|----------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|----------------------|
| <b>ME041</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME042</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | 0          | 0          | Acidófilo            |
| <b>ME043</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | 0          | 0          | Acidófilo            |
| <b>ME044</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME045</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME046</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME047</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME048</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME049</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | 0          | 0          | Acidófilo            |
| <b>ME050</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | 0          | 0          | Acidófilo            |
| <b>ME051</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | 0          | 0          | Acidófilo            |
| <b>ME052</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | 0          | 0          | Acidófilo            |
| <b>ME053</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | 0          | 0          | Acidófilo            |
| <b>ME054</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME055</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME056</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME057</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME058</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME059</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME060</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME061</b>  | 1              | 0          | 1          | 1          | 0          | 0          | 0          | 0          | Acidófilo            |
| <b>ME062</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | 0          | Acidófilo            |
| <b>ME063</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | 0          | Acidófilo            |
| <b>ME064</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | 0          | Acidófilo            |
| <b>ME065</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | 0          | Acidófilo            |
| <b>ME066</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | 0          | Acidófilo            |
| <b>ME067</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME068</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME069</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME070</b>  | 1              | 0          | 1          | 1          | 0          | 0          | 0          | 0          | Acidófilo            |
| <b>ME071</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | Alcalitolerante      |
| <b>ME072</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME073</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME074</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME075</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME076</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME077</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME078</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | Alcalitolerante      |
| <b>ME079</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME080</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |

....Continuación Tabla C6

| <b>Código</b> | <b>Control</b> | <b>3.5</b> | <b>4.5</b> | <b>5.5</b> | <b>6.5</b> | <b>7.5</b> | <b>8.5</b> | <b>9.5</b> | <b>Clasificación</b> |
|---------------|----------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|----------------------|
| <b>ME081</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME082</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME083</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME084</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME085</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME086</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME087</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME088</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME089</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | Alcalitolerante      |
| <b>ME090</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME091</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME092</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | Alcalitolerante      |
| <b>ME093</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | 0          | Neutrotolerante      |
| <b>ME094</b>  | 1              | 1          | 1          | 1          | 1          | 1          | 1          | 0          | Alcalitolerante      |

**Tabla C7.** Matriz binaria de pruebas fisiológicas de salinidad

| Código       | control | 1% | 5% | 10% | 15% | Clasificación    |
|--------------|---------|----|----|-----|-----|------------------|
| <b>ME001</b> | 1       | 1  | 1  | 0   | 0   | Halófilo         |
| <b>ME002</b> | 1       | 1  | 1  | 1   | 0   | Halófilo Extremo |
| <b>ME003</b> | 1       | 1  | 1  | 1   | 0   | Halófilo Extremo |
| <b>ME004</b> | 1       | 1  | 1  | 1   | 1   | Halófilo Extremo |
| <b>ME005</b> | 1       | 1  | 1  | 1   | 0   | Halófilo Extremo |
| <b>ME006</b> | 1       | 1  | 1  | 1   | 0   | Halófilo Extremo |
| <b>ME007</b> | 1       | 1  | 1  | 1   | 0   | Halófilo Extremo |
| <b>ME008</b> | 1       | 1  | 1  | 1   | 0   | Halófilo Extremo |
| <b>ME009</b> | 1       | 1  | 1  | 0   | 0   | Halófilo         |
| <b>ME010</b> | 1       | 1  | 0  | 0   | 0   | Halófilo débil   |
| <b>ME011</b> | 1       | 1  | 1  | 0   | 0   | Halófilo         |
| <b>ME012</b> | 1       | 1  | 1  | 1   | 0   | Halófilo Extremo |
| <b>ME013</b> | 1       | 1  | 0  | 0   | 0   | Halófilo débil   |
| <b>ME014</b> | 1       | 1  | 1  | 0   | 0   | Halófilo         |
| <b>ME015</b> | 1       | 1  | 1  | 0   | 0   | Halófilo         |
| <b>ME016</b> | 1       | 1  | 1  | 1   | 0   | Halófilo Extremo |
| <b>ME017</b> | 1       | 1  | 1  | 1   | 0   | Halófilo Extremo |
| <b>ME018</b> | 1       | 1  | 1  | 0   | 0   | Halófilo         |
| <b>ME019</b> | 1       | 1  | 1  | 0   | 0   | Halófilo         |
| <b>ME020</b> | 1       | 1  | 1  | 1   | 0   | Halófilo Extremo |
| <b>ME021</b> | 1       | 1  | 1  | 1   | 0   | Halófilo Extremo |
| <b>ME022</b> | 1       | 1  | 1  | 1   | 0   | Halófilo Extremo |
| <b>ME023</b> | 1       | 1  | 1  | 1   | 0   | Halófilo Extremo |
| <b>ME024</b> | 1       | 1  | 1  | 1   | 0   | Halófilo Extremo |
| <b>ME025</b> | 1       | 1  | 0  | 0   | 0   | Halófilo débil   |
| <b>ME026</b> | 1       | 1  | 0  | 0   | 0   | Halófilo débil   |
| <b>ME027</b> | 1       | 1  | 1  | 1   | 0   | Halófilo Extremo |
| <b>ME028</b> | 1       | 1  | 1  | 1   | 0   | Halófilo Extremo |
| <b>ME029</b> | 1       | 1  | 1  | 0   | 0   | Halófilo         |
| <b>ME030</b> | 1       | 1  | 1  | 0   | 0   | Halófilo         |
| <b>ME031</b> | 1       | 1  | 1  | 0   | 0   | Halófilo         |
| <b>ME032</b> | 1       | 1  | 0  | 0   | 0   | Halófilo débil   |
| <b>ME033</b> | 1       | 1  | 0  | 0   | 0   | Halófilo débil   |
| <b>ME034</b> | 1       | 1  | 0  | 0   | 0   | Halófilo débil   |
| <b>ME035</b> | 1       | 1  | 1  | 1   | 0   | Halófilo Extremo |
| <b>ME036</b> | 1       | 1  | 1  | 1   | 1   | Halófilo Extremo |
| <b>ME037</b> | 1       | 1  | 1  | 1   | 0   | Halófilo Extremo |
| <b>ME038</b> | 1       | 1  | 0  | 0   | 0   | Halófilo débil   |
| <b>ME039</b> | 1       | 1  | 1  | 0   | 0   | Halófilo         |
| <b>ME040</b> | 1       | 0  | 0  | 0   | 0   | Halófilo débil   |

....Continuación Tabla C7

| <b>Código</b> | <b>control</b> | <b>1%</b> | <b>5%</b> | <b>10%</b> | <b>15%</b> | <b>Clasificación</b> |
|---------------|----------------|-----------|-----------|------------|------------|----------------------|
| ME041         | 1              | 1         | 1         | 1          | 1          | Halófilo Extremo     |
| ME042         | 1              | 1         | 1         | 1          | 0          | Halófilo Extremo     |
| ME043         | 1              | 1         | 1         | 1          | 0          | Halófilo Extremo     |
| ME044         | 1              | 1         | 1         | 0          | 0          | Halófilo             |
| ME045         | 1              | 1         | 1         | 0          | 0          | Halófilo             |
| ME046         | 1              | 1         | 1         | 0          | 0          | Halófilo             |
| ME047         | 1              | 1         | 1         | 1          | 0          | Halófilo Extremo     |
| ME048         | 1              | 1         | 1         | 0          | 0          | Halófilo             |
| ME049         | 1              | 1         | 1         | 0          | 0          | Halófilo             |
| ME050         | 1              | 1         | 1         | 1          | 0          | Halófilo Extremo     |
| ME051         | 1              | 1         | 1         | 1          | 0          | Halófilo Extremo     |
| ME052         | 1              | 1         | 1         | 1          | 0          | Halófilo Extremo     |
| ME053         | 1              | 1         | 1         | 0          | 0          | Halófilo             |
| ME054         | 1              | 1         | 1         | 0          | 0          | Halófilo             |
| ME055         | 1              | 0         | 0         | 0          | 0          | Halófilo débil       |
| ME056         | 1              | 1         | 1         | 1          | 0          | Halófilo Extremo     |
| ME057         | 1              | 1         | 1         | 1          | 0          | Halófilo Extremo     |
| ME058         | 1              | 1         | 1         | 1          | 0          | Halófilo Extremo     |
| ME059         | 1              | 1         | 1         | 1          | 0          | Halófilo Extremo     |
| ME060         | 1              | 1         | 1         | 1          | 1          | Halófilo Extremo     |
| ME061         | 1              | 1         | 0         | 0          | 0          | Halófilo débil       |
| ME062         | 1              | 1         | 1         | 0          | 0          | Halófilo             |
| ME063         | 1              | 1         | 1         | 0          | 0          | Halófilo             |
| ME064         | 1              | 1         | 1         | 0          | 0          | Halófilo             |
| ME065         | 1              | 1         | 1         | 0          | 0          | Halófilo             |
| ME066         | 1              | 1         | 1         | 0          | 0          | Halófilo             |
| ME067         | 1              | 1         | 1         | 0          | 0          | Halófilo             |
| ME068         | 1              | 1         | 1         | 0          | 0          | Halófilo             |
| ME069         | 1              | 1         | 1         | 0          | 0          | Halófilo             |
| ME070         | 1              | 1         | 0         | 0          | 0          | Halófilo débil       |
| ME071         | 1              | 1         | 1         | 1          | 1          | Halófilo Extremo     |
| ME072         | 1              | 1         | 1         | 1          | 0          | Halófilo Extremo     |
| ME073         | 1              | 1         | 1         | 1          | 0          | Halófilo Extremo     |
| ME074         | 1              | 1         | 1         | 1          | 0          | Halófilo Extremo     |
| ME075         | 1              | 1         | 1         | 1          | 0          | Halófilo Extremo     |
| ME076         | 1              | 1         | 1         | 1          | 0          | Halófilo Extremo     |
| ME077         | 1              | 1         | 1         | 0          | 0          | Halófilo             |
| ME078         | 1              | 1         | 1         | 1          | 1          | Halófilo Extremo     |
| ME079         | 1              | 1         | 1         | 0          | 0          | Halófilo             |
| ME080         | 1              | 1         | 1         | 0          | 0          | Halófilo             |

...Continuación Tabla C7

| Código       | control | 1% | 5% | 10% | 15% | Clasificación    |
|--------------|---------|----|----|-----|-----|------------------|
| <b>ME081</b> | 1       | 1  | 1  | 0   | 0   | Halófilo         |
| <b>ME082</b> | 1       | 1  | 1  | 1   | 1   | Halófilo Extremo |
| <b>ME083</b> | 1       | 1  | 1  | 1   | 1   | Halófilo Extremo |
| <b>ME084</b> | 1       | 1  | 1  | 1   | 1   | Halófilo Extremo |
| <b>ME085</b> | 1       | 1  | 1  | 1   | 1   | Halófilo Extremo |
| <b>ME086</b> | 1       | 1  | 1  | 1   | 1   | Halófilo Extremo |
| <b>ME087</b> | 1       | 1  | 1  | 1   | 1   | Halófilo Extremo |
| <b>ME088</b> | 1       | 1  | 1  | 1   | 1   | Halófilo Extremo |
| <b>ME089</b> | 1       | 1  | 1  | 1   | 0   | Halófilo Extremo |
| <b>ME090</b> | 1       | 1  | 1  | 1   | 0   | Halófilo Extremo |
| <b>ME091</b> | 1       | 1  | 1  | 1   | 0   | Halófilo Extremo |
| <b>ME092</b> | 1       | 1  | 1  | 1   | 1   | Halófilo Extremo |
| <b>ME093</b> | 1       | 1  | 1  | 1   | 1   | Halófilo Extremo |
| <b>ME094</b> | 1       | 1  | 1  | 1   | 1   | Halófilo Extremo |

**Tabla C8.** Matriz binaria de las pruebas fisiológicas

| Código | Temperatura |       |       |       | Ph    |     |     |     | Salinidad |     |     |     | aa. Fuente unica de C y N |    |     |     |    |    |    |    |    |    | aa. Fuente unica de C |    |    |     |     |     |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |     |     |     |     |   |   |
|--------|-------------|-------|-------|-------|-------|-----|-----|-----|-----------|-----|-----|-----|---------------------------|----|-----|-----|----|----|----|----|----|----|-----------------------|----|----|-----|-----|-----|-----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|-----|-----|-----|---|---|
|        | 4 °C        | 10 °C | 27 °C | 37 °C | 50 °C | 3.5 | 4.5 | 5.5 | 6.5       | 7.5 | 8.5 | 9.5 | 1%                        | 5% | 10% | 15% | A1 | A2 | A3 | A4 | A5 | A6 | A7                    | A8 | A9 | A10 | A11 | A12 | A13 | A1 | A2 | A3 | A4 | A5 | A6 | A7 | A8 | A9 | A10 | A11 | A12 | A13 |   |   |
| ME001  | 1           | 1     | 1     | 0     | 0     | 1   | 1   | 1   | 0         | 0   | 0   | 0   | 1                         | 1  | 0   | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0                     | 0  | 0  | 0   | 0   | 0   | 0   | 0  | 0  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 0   | 1   | 0   | 0 |   |
| ME002  | 1           | 1     | 1     | 0     | 0     | 1   | 1   | 1   | 1         | 0   | 0   | 0   | 1                         | 1  | 1   | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0                     | 0  | 0  | 0   | 0   | 0   | 0   | 0  | 0  | 0  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 0   | 1   | 1 | 0 |
| ME003  | 1           | 1     | 1     | 0     | 0     | 1   | 1   | 1   | 0         | 0   | 0   | 0   | 1                         | 1  | 1   | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0                     | 0  | 0  | 0   | 0   | 0   | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 1  | 1  | 0  | 1  | 1  | 0   | 0   | 0   | 0   |   |   |
| ME004  | 1           | 1     | 1     | 0     | 0     | 1   | 1   | 1   | 0         | 0   | 0   | 0   | 1                         | 1  | 1   | 1   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0                     | 0  | 0  | 0   | 0   | 0   | 0   | 0  | 1  | 0  | 1  | 1  | 0  | 1  | 0  | 0  | 1   | 1   | 1   | 0   |   |   |
| ME005  | 1           | 1     | 1     | 0     | 0     | 1   | 1   | 1   | 1         | 0   | 0   | 0   | 1                         | 1  | 1   | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0                     | 0  | 0  | 0   | 0   | 0   | 0   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 0  | 0   | 1   | 1   | 0   |   |   |
| ME006  | 1           | 1     | 1     | 0     | 0     | 1   | 1   | 1   | 1         | 0   | 0   | 0   | 1                         | 1  | 1   | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0                     | 0  | 0  | 0   | 0   | 0   | 0   | 0  | 0  | 0  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 0   | 1   | 0   | 0 |   |
| ME007  | 1           | 1     | 1     | 0     | 0     | 1   | 1   | 1   | 1         | 0   | 0   | 0   | 1                         | 1  | 1   | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0                     | 0  | 0  | 0   | 0   | 0   | 0   | 1  | 0  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 0   | 0   | 1   | 1   | 0 |   |
| ME008  | 1           | 1     | 1     | 0     | 0     | 1   | 1   | 1   | 1         | 1   | 1   | 0   | 1                         | 1  | 1   | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0                     | 0  | 0  | 1   | 0   | 0   | 0   | 1  | 1  | 1  | 0  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 0   | 1   | 1   | 1 |   |
| ME009  | 1           | 1     | 1     | 0     | 0     | 1   | 1   | 1   | 0         | 0   | 0   | 0   | 1                         | 1  | 0   | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0                     | 0  | 0  | 0   | 0   | 0   | 0   | 1  | 0  | 0  | 0  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 | 1 |
| ME010  | 0           | 0     | 1     | 0     | 0     | 1   | 1   | 1   | 1         | 1   | 0   | 0   | 1                         | 0  | 0   | 0   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1                     | 1  | 1  | 0   | 1   | 1   | 1   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 0   | 1   | 1   | 0   |   |   |
| ME011  | 0           | 0     | 1     | 0     | 0     | 1   | 1   | 1   | 1         | 1   | 0   | 0   | 1                         | 1  | 0   | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0                     | 0  | 0  | 0   | 0   | 0   | 0   | 0  | 0  | 1  | 1  | 0  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 0   | 1   | 1   | 0 |   |
| ME012  | 1           | 1     | 1     | 0     | 0     | 1   | 1   | 1   | 1         | 1   | 0   | 0   | 1                         | 1  | 1   | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0                     | 0  | 0  | 0   | 0   | 0   | 0   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 0   | 0   | 1   | 1   | 0 |   |
| ME013  | 0           | 0     | 1     | 0     | 0     | 1   | 1   | 1   | 1         | 1   | 0   | 0   | 1                         | 0  | 0   | 0   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1                     | 1  | 1  | 0   | 1   | 1   | 1   | 1  | 0  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 0   | 0   | 1   | 1   | 0 |   |
| ME014  | 1           | 1     | 1     | 0     | 0     | 0   | 1   | 1   | 1         | 0   | 0   | 0   | 1                         | 1  | 0   | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0                     | 0  | 0  | 0   | 0   | 0   | 0   | 1  | 0  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 0   | 0   | 1   | 0   | 0 |   |
| ME015  | 0           | 0     | 1     | 0     | 0     | 1   | 1   | 1   | 0         | 0   | 0   | 0   | 1                         | 1  | 0   | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0                     | 0  | 0  | 0   | 0   | 0   | 0   | 1  | 0  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 0   | 1   | 0   | 0 |   |
| ME016  | 0           | 0     | 1     | 0     | 0     | 1   | 1   | 1   | 0         | 0   | 0   | 0   | 1                         | 1  | 1   | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0                     | 0  | 0  | 0   | 0   | 0   | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0   | 0   | 0   | 0   | 0 |   |
| ME017  | 1           | 1     | 1     | 0     | 0     | 1   | 1   | 1   | 0         | 0   | 0   | 0   | 1                         | 1  | 1   | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0                     | 0  | 0  | 0   | 0   | 0   | 0   | 1  | 0  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 |   |
| ME018  | 1           | 1     | 1     | 0     | 0     | 1   | 1   | 1   | 1         | 0   | 0   | 0   | 1                         | 1  | 0   | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0                     | 0  | 0  | 0   | 0   | 0   | 0   | 1  | 0  | 1  | 1  | 1  | 0  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 |   |
| ME019  | 1           | 1     | 1     | 0     | 0     | 1   | 1   | 1   | 1         | 0   | 0   | 0   | 1                         | 1  | 0   | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0                     | 0  | 0  | 0   | 0   | 0   | 0   | 1  | 0  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 |   |
| ME020  | 1           | 1     | 1     | 0     | 0     | 1   | 1   | 1   | 1         | 0   | 0   | 0   | 1                         | 1  | 1   | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0                     | 0  | 0  | 0   | 0   | 0   | 0   | 1  | 0  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 |   |



....Continuación Tabla C8

| Código | Temperatura |       |       |       |       | Ph  |     |     |     |     |     |     |    | Salinidad |     |     |    | aa. Fuente unica de C y N |    |    |    |    |    |    |    |     |     |     |     |    | aa. Fuente unica de C |    |    |    |    |    |    |    |     |     |     |     |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
|--------|-------------|-------|-------|-------|-------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|-----------|-----|-----|----|---------------------------|----|----|----|----|----|----|----|-----|-----|-----|-----|----|-----------------------|----|----|----|----|----|----|----|-----|-----|-----|-----|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
|        | 4 °C        | 10 °C | 27 °C | 37 °C | 50 °C | 3.5 | 4.5 | 5.5 | 6.5 | 7.5 | 8.5 | 9.5 | 1% | 5%        | 10% | 15% | A1 | A2                        | A3 | A4 | A5 | A6 | A7 | A8 | A9 | A10 | A11 | A12 | A13 | A1 | A2                    | A3 | A4 | A5 | A6 | A7 | A8 | A9 | A10 | A11 | A12 | A13 |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
| ME041  | 1           | 1     | 1     | 1     | 1     | 1   | 1   | 1   | 1   | 1   | 0   | 0   | 1  | 1         | 1   | 1   | 0  | 0                         | 0  | 0  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 0   | 1   | 1  | 1                     | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |   |   |   |   |   |   |
| ME042  | 0           | 0     | 1     | 0     | 0     | 1   | 1   | 1   | 0   | 0   | 0   | 0   | 1  | 1         | 1   | 0   | 0  | 0                         | 0  | 0  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 0   | 0   | 1  | 1                     | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |   |   |   |   |   |
| ME043  | 0           | 0     | 1     | 0     | 0     | 1   | 1   | 1   | 0   | 0   | 0   | 0   | 1  | 1         | 1   | 0   | 0  | 0                         | 0  | 0  | 1  | 0  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 0   | 0   | 1  | 1                     | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |   |   |   |   |
| ME044  | 1           | 1     | 1     | 0     | 0     | 1   | 1   | 1   | 1   | 0   | 0   | 0   | 1  | 1         | 0   | 0   | 0  | 0                         | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0   | 0   | 1   | 0   | 0  | 1                     | 0  | 1  | 1  | 0  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |   |   |   |
| ME045  | 1           | 1     | 1     | 0     | 0     | 1   | 1   | 1   | 1   | 0   | 0   | 0   | 1  | 1         | 0   | 0   | 0  | 0                         | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0   | 1   | 1   | 1   | 0  | 0                     | 1  | 0  | 1  | 1  | 0  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |   |   |   |
| ME046  | 1           | 1     | 1     | 0     | 0     | 1   | 1   | 1   | 1   | 0   | 0   | 0   | 1  | 1         | 0   | 0   | 0  | 0                         | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0   | 0   | 0   | 0   | 1  | 0                     | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |   |   |   |
| ME047  | 1           | 1     | 1     | 0     | 0     | 1   | 1   | 1   | 1   | 0   | 0   | 0   | 1  | 1         | 1   | 0   | 0  | 0                         | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0   | 0   | 0   | 1   | 0  | 1                     | 0  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |   |   |   |
| ME048  | 1           | 1     | 1     | 0     | 0     | 1   | 1   | 1   | 1   | 0   | 0   | 0   | 1  | 1         | 0   | 0   | 0  | 0                         | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0   | 0   | 0   | 0   | 1  | 0                     | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |   |   |   |
| ME049  | 1           | 1     | 1     | 0     | 0     | 1   | 1   | 1   | 0   | 0   | 0   | 0   | 1  | 1         | 0   | 0   | 0  | 0                         | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0   | 0   | 0   | 0   | 0  | 0                     | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |   |   |
| ME050  | 1           | 1     | 1     | 0     | 0     | 1   | 1   | 1   | 0   | 0   | 0   | 0   | 1  | 1         | 1   | 0   | 0  | 0                         | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0   | 0   | 0   | 0   | 1  | 1                     | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |   |
| ME051  | 1           | 1     | 1     | 0     | 0     | 1   | 1   | 1   | 0   | 0   | 0   | 0   | 1  | 1         | 1   | 0   | 0  | 0                         | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0   | 0   | 0   | 1   | 0  | 1                     | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |   |
| ME052  | 1           | 1     | 1     | 0     | 0     | 1   | 1   | 1   | 0   | 0   | 0   | 0   | 1  | 1         | 1   | 0   | 1  | 1                         | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 0   | 1   | 1   | 1   | 1  | 1                     | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |   |
| ME053  | 0           | 0     | 1     | 0     | 0     | 1   | 1   | 1   | 0   | 0   | 0   | 0   | 1  | 1         | 0   | 0   | 1  | 0                         | 0  | 0  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 0   | 1   | 1   | 1   | 1  | 1                     | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |   |
| ME054  | 0           | 0     | 1     | 0     | 0     | 1   | 1   | 1   | 1   | 0   | 0   | 0   | 1  | 1         | 0   | 0   | 1  | 0                         | 1  | 1  | 0  | 1  | 1  | 1  | 1  | 0   | 1   | 1   | 1   | 1  | 0                     | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |   |
| ME055  | 0           | 1     | 1     | 0     | 0     | 1   | 1   | 1   | 1   | 0   | 0   | 0   | 0  | 0         | 0   | 0   | 0  | 0                         | 0  | 1  | 0  | 1  | 1  | 1  | 1  | 0   | 1   | 1   | 1   | 1  | 1                     | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| ME056  | 1           | 1     | 1     | 0     | 0     | 1   | 1   | 1   | 1   | 0   | 0   | 0   | 1  | 1         | 1   | 0   | 0  | 0                         | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0   | 1   | 1   | 0   | 0  | 1                     | 1  | 0  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |   |
| ME057  | 0           | 0     | 1     | 0     | 0     | 1   | 1   | 1   | 1   | 0   | 0   | 0   | 1  | 1         | 1   | 0   | 0  | 0                         | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0   | 0   | 0   | 1   | 0  | 0                     | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0   | 0   | 0   | 0   | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |   |
| ME058  | 1           | 1     | 1     | 1     | 0     | 1   | 1   | 1   | 1   | 1   | 0   | 0   | 1  | 1         | 1   | 0   | 0  | 0                         | 0  | 0  | 1  | 0  | 1  | 1  | 1  | 0   | 1   | 0   | 1   | 1  | 1                     | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |   |
| ME059  | 1           | 1     | 1     | 1     | 0     | 1   | 1   | 1   | 1   | 1   | 0   | 0   | 1  | 1         | 1   | 0   | 1  | 1                         | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1  | 1                     | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |   |
| ME060  | 1           | 1     | 1     | 0     | 0     | 1   | 1   | 1   | 1   | 1   | 0   | 0   | 1  | 1         | 1   | 1   | 1  | 1                         | 1  | 1  | 0  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1  | 1                     | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |   |



.....Continuación Tabla C8

| Código | Temperatura |       |       |       |       | Ph  |     |     |     |     | Salinidad |     |    |    | aa. Fuente unica de C y N |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |     |     | aa. Fuente unica de C |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |     |     |     |     |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
|--------|-------------|-------|-------|-------|-------|-----|-----|-----|-----|-----|-----------|-----|----|----|---------------------------|-----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|-----|-----------------------|-----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|-----|-----|-----|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
|        | 4 °C        | 10 °C | 27 °C | 37 °C | 50 °C | 3.5 | 4.5 | 5.5 | 6.5 | 7.5 | 8.5       | 9.5 | 1% | 5% | 10%                       | 15% | A1 | A2 | A3 | A4 | A5 | A6 | A7 | A8 | A9 | A10 | A11 | A12                   | A13 | A1 | A2 | A3 | A4 | A5 | A6 | A7 | A8 | A9 | A10 | A11 | A12 | A13 |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
| ME061  | 1           | 1     | 1     | 0     | 0     | 0   | 1   | 1   | 0   | 0   | 0         | 0   | 1  | 0  | 0                         | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0   | 0   | 0                     | 0   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |   |   |   |   |
| ME062  | 1           | 1     | 1     | 0     | 0     | 1   | 1   | 1   | 1   | 0   | 0         | 0   | 1  | 1  | 0                         | 0   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1                     | 1   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |   |   |   |
| ME063  | 1           | 1     | 1     | 0     | 0     | 1   | 1   | 1   | 1   | 0   | 0         | 0   | 1  | 1  | 0                         | 0   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1                     | 1   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |   |   |   |
| ME064  | 1           | 1     | 1     | 0     | 0     | 1   | 1   | 1   | 1   | 0   | 0         | 0   | 1  | 1  | 0                         | 0   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1                     | 1   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |   |   |
| ME065  | 1           | 1     | 1     | 0     | 0     | 1   | 1   | 1   | 1   | 0   | 0         | 0   | 1  | 1  | 0                         | 0   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1                     | 1   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |   |   |
| ME066  | 1           | 1     | 1     | 1     | 0     | 1   | 1   | 1   | 1   | 0   | 0         | 0   | 1  | 1  | 0                         | 0   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1                     | 1   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |   |   |
| ME067  | 0           | 0     | 1     | 0     | 0     | 1   | 1   | 1   | 1   | 1   | 0         | 0   | 1  | 1  | 0                         | 0   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1                     | 1   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |   |   |
| ME068  | 0           | 0     | 1     | 0     | 0     | 1   | 1   | 1   | 1   | 1   | 0         | 0   | 1  | 1  | 0                         | 0   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1                     | 1   | 1  | 0  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |   |   |
| ME069  | 1           | 1     | 1     | 0     | 0     | 1   | 1   | 1   | 1   | 0   | 0         | 0   | 1  | 1  | 0                         | 0   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1                     | 1   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |   |
| ME070  | 1           | 1     | 1     | 0     | 0     | 0   | 1   | 1   | 0   | 0   | 0         | 0   | 1  | 0  | 0                         | 0   | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0   | 0   | 0                     | 0   | 0  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |   |
| ME071  | 1           | 1     | 1     | 1     | 1     | 1   | 1   | 1   | 1   | 1   | 0         | 1   | 1  | 1  | 1                         | 1   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1                     | 1   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |   |
| ME072  | 1           | 1     | 1     | 1     | 0     | 1   | 1   | 1   | 1   | 1   | 0         | 0   | 1  | 1  | 1                         | 0   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1                     | 1   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |   |
| ME073  | 1           | 1     | 1     | 0     | 0     | 1   | 1   | 1   | 1   | 1   | 0         | 0   | 1  | 1  | 1                         | 0   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1                     | 1   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |   |
| ME074  | 1           | 1     | 1     | 1     | 0     | 1   | 1   | 1   | 1   | 1   | 0         | 0   | 1  | 1  | 1                         | 0   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1                     | 1   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |   |
| ME075  | 1           | 1     | 1     | 1     | 0     | 1   | 1   | 1   | 1   | 1   | 0         | 0   | 1  | 1  | 1                         | 0   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1                     | 1   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| ME076  | 1           | 1     | 1     | 1     | 0     | 1   | 1   | 1   | 1   | 1   | 0         | 0   | 1  | 1  | 1                         | 0   | 0  | 0  | 0  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1                     | 1   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| ME077  | 1           | 1     | 1     | 1     | 0     | 1   | 1   | 1   | 1   | 1   | 0         | 0   | 1  | 1  | 0                         | 0   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1                     | 1   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| ME078  | 1           | 1     | 1     | 1     | 0     | 1   | 1   | 1   | 1   | 1   | 1         | 0   | 1  | 1  | 1                         | 1   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1                     | 1   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| ME079  | 1           | 1     | 1     | 1     | 0     | 1   | 1   | 1   | 1   | 1   | 0         | 0   | 1  | 1  | 0                         | 0   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1                     | 1   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 0   | 0   | 0   | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |   |
| ME080  | 1           | 1     | 1     | 1     | 0     | 1   | 1   | 1   | 1   | 1   | 0         | 0   | 1  | 1  | 0                         | 0   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1                     | 1   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |

...Continuación Tabla C8

| Código | Temperatura |       |       |       | Ph    |     |     |     |     | Salinidad |     |     |    | aa. Fuente unica de C y N |     |     |    |    |    |    |    |    |    | aa. Fuente unica de C |    |     |     |     |     |    |    |    |    |    |    |    |    |    |     |     |     |     |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
|--------|-------------|-------|-------|-------|-------|-----|-----|-----|-----|-----------|-----|-----|----|---------------------------|-----|-----|----|----|----|----|----|----|----|-----------------------|----|-----|-----|-----|-----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|-----|-----|-----|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
|        | 4 °C        | 10 °C | 27 °C | 37 °C | 50 °C | 3.5 | 4.5 | 5.5 | 6.5 | 7.5       | 8.5 | 9.5 | 1% | 5%                        | 10% | 15% | A1 | A2 | A3 | A4 | A5 | A6 | A7 | A8                    | A9 | A10 | A11 | A12 | A13 | A1 | A2 | A3 | A4 | A5 | A6 | A7 | A8 | A9 | A10 | A11 | A12 | A13 |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
| ME081  | 1           | 1     | 1     | 1     | 0     | 1   | 1   | 1   | 1   | 1         | 0   | 0   | 1  | 1                         | 0   | 0   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1                     | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |   |   |   |   |   |   |   |
| ME082  | 1           | 1     | 1     | 1     | 1     | 1   | 1   | 1   | 1   | 1         | 0   | 0   | 1  | 1                         | 1   | 1   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1                     | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |   |   |   |   |   |
| ME083  | 1           | 1     | 1     | 1     | 1     | 1   | 1   | 1   | 1   | 1         | 0   | 0   | 1  | 1                         | 1   | 1   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1                     | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |   |   |   |   |
| ME084  | 1           | 1     | 1     | 1     | 1     | 1   | 1   | 1   | 1   | 1         | 0   | 0   | 1  | 1                         | 1   | 1   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1                     | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |   |   |   |
| ME085  | 1           | 1     | 1     | 1     | 0     | 1   | 1   | 1   | 1   | 1         | 0   | 0   | 1  | 1                         | 1   | 1   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1                     | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |   |   |   |   |
| ME086  | 1           | 1     | 1     | 1     | 1     | 1   | 1   | 1   | 1   | 1         | 0   | 0   | 1  | 1                         | 1   | 1   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1                     | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |   |   |   |
| ME087  | 1           | 1     | 1     | 1     | 0     | 1   | 1   | 1   | 1   | 1         | 0   | 0   | 1  | 1                         | 1   | 1   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1                     | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |   |   |   |
| ME088  | 1           | 1     | 1     | 1     | 0     | 1   | 1   | 1   | 1   | 1         | 0   | 0   | 1  | 1                         | 1   | 1   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1                     | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |   |   |
| ME089  | 1           | 1     | 1     | 1     | 0     | 1   | 1   | 1   | 1   | 1         | 1   | 0   | 1  | 1                         | 1   | 0   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1                     | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |   |   |
| ME090  | 1           | 1     | 1     | 1     | 0     | 1   | 1   | 1   | 1   | 1         | 0   | 0   | 1  | 1                         | 1   | 0   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1                     | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |   |   |
| ME091  | 1           | 1     | 1     | 1     | 0     | 1   | 1   | 1   | 1   | 1         | 0   | 0   | 1  | 1                         | 1   | 0   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1                     | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |   |   |
| ME092  | 1           | 1     | 1     | 1     | 0     | 1   | 1   | 1   | 1   | 1         | 1   | 0   | 1  | 1                         | 1   | 1   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1                     | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |   |   |
| ME093  | 1           | 1     | 1     | 1     | 0     | 1   | 1   | 1   | 1   | 1         | 0   | 0   | 1  | 1                         | 1   | 1   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1                     | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |   |
| ME094  | 1           | 1     | 1     | 1     | 0     | 1   | 1   | 1   | 1   | 1         | 1   | 0   | 1  | 1                         | 1   | 1   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1                     | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1   | 1   | 1   | 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |

**Tabla C9.** Determinación de la concentración del ADN genómico de levaduras

| Código       | Conc. ácidos nucleicos(ng/μl) | 260/280 | 260/230 |
|--------------|-------------------------------|---------|---------|
| <b>ME001</b> | 675,57                        | 0,92    | 2,26    |
| <b>ME002</b> | 702,77                        | 0,96    | 1,75    |
| <b>ME003</b> | 2208,8                        | 1,96    | 1,19    |
| <b>ME004</b> | 1382,23                       | 1,99    | 1,12    |
| <b>ME005</b> | 3535,4                        | 2,17    | 2       |
| <b>ME006</b> | 728,93                        | 0,95    | 1,44    |
| <b>ME007</b> | 231,57                        | 1,51    | 0,8     |
| <b>ME008</b> | 2648,37                       | 2,15    | 1,59    |
| <b>ME009</b> | 3438,1                        | 2,18    | 2,04    |
| <b>ME010</b> | 708,33                        | 1,67    | 0,78    |
| <b>ME011</b> | 2730,23                       | 2,12    | 1,78    |
| <b>ME012</b> | 2682,33                       | 2,04    | 1,53    |
| <b>ME013</b> | 2168,8                        | 1,8     | 1,35    |
| <b>ME014</b> | 1460,57                       | 2,16    | 1,69    |
| <b>ME015</b> | 2638,07                       | 2,16    | 1,71    |
| <b>ME016</b> | 2097,93                       | 2,1     | 1,57    |
| <b>ME017</b> | 1955,13                       | 2,17    | 1,7     |
| <b>ME018</b> | 784,77                        | 1,18    | 1,49    |
| <b>ME019</b> | 1170,3                        | 2,02    | 1,27    |
| <b>ME020</b> | 646,33                        | 1,8     | 1,18    |
| <b>ME021</b> | 796,77                        | 1,5     | 1,39    |
| <b>ME022</b> | 498,03                        | 1,63    | 0,94    |
| <b>ME023</b> | 663,8                         | 0,87    | 1,59    |
| <b>ME024</b> | 827,67                        | 1,65    | 1,36    |
| <b>ME025</b> | 417,03                        | 1,73    | 0,81    |
| <b>ME026</b> | 1181,3                        | 1,72    | 0,9     |
| <b>ME027</b> | 1595,63                       | 1,71    | 0,91    |
| <b>ME028</b> | 1453,63                       | 1,7     | 0,89    |
| <b>ME029</b> | 433,2                         | 1,57    | 0,79    |
| <b>ME030</b> | 1459,03                       | 1,77    | 0,92    |
| <b>ME031</b> | 978,87                        | 1,67    | 0,81    |
| <b>ME032</b> | 387,93                        | 1,5     | 0,71    |
| <b>ME033</b> | 276,13                        | 1,55    | 0,66    |
| <b>ME034</b> | 259,3                         | 1,55    | 0,63    |
| <b>ME035</b> | 1217,33                       | 1,77    | 0,85    |
| <b>ME036</b> | 3680,7                        | 1,87    | 1,09    |
| <b>ME037</b> | 4158,5                        | 1,9     | 1,12    |
| <b>ME038</b> | 2782,47                       | 1,77    | 0,99    |

.....Continuación Tabla C9

| Código       | Conc. ácidos nucleicos(ng/μl) | 260/280 | 260/230 |
|--------------|-------------------------------|---------|---------|
| <b>ME039</b> | 2464,43                       | 1,68    | 0,86    |
| <b>ME040</b> | 4714,87                       | 1,9     | 1,46    |
| <b>ME041</b> | 5153,13                       | 1,91    | 1,1     |
| <b>ME042</b> | 3122,27                       | 1,78    | 0,97    |
| <b>ME043</b> | 3166,17                       | 1,79    | 1,02    |
| <b>ME044</b> | 3407,37                       | 1,92    | 1,16    |
| <b>ME045</b> | 3526,83                       | 1,96    | 1,13    |
| <b>ME046</b> | 3059,57                       | 1,98    | 1,28    |
| <b>ME047</b> | 2967,37                       | 1,96    | 1,21    |
| <b>ME048</b> | 3447,4                        | 1,91    | 1,05    |
| <b>ME049</b> | 1354,73                       | 1,98    | 1,11    |
| <b>ME050</b> | 1211,57                       | 1,69    | 0,84    |
| <b>ME051</b> | 5413,6                        | 1,86    | 1,02    |
| <b>ME052</b> | 5109,43                       | 1,89    | 1,07    |
| <b>ME053</b> | 156,37                        | 1,58    | 1,66    |
| <b>ME054</b> | 4472,83                       | 1,97    | 1,17    |
| <b>ME055</b> | 796,37                        | 1,63    | 0,65    |
| <b>ME056</b> | 4161,93                       | 1,94    | 1,11    |
| <b>ME057</b> | 1364,43                       | 2       | 1,13    |
| <b>ME058</b> | 1788,6                        | 2,05    | 1,26    |
| <b>ME059</b> | 3177,53                       | 1,89    | 1,1     |
| <b>ME060</b> | 3772,83                       | 2,08    | 1,34    |
| <b>ME061</b> | 2270,8                        | 0,89    | 1,2     |
| <b>ME062</b> | 2277,8                        | 2,02    | 1,33    |
| <b>ME063</b> | 1505,8                        | 1,95    | 1,27    |
| <b>ME064</b> | 1359,23                       | 2,06    | 1,42    |
| <b>ME065</b> | 1652,3                        | 2,02    | 1,34    |
| <b>ME066</b> | 1105,4                        | 2,05    | 1,4     |
| <b>ME067</b> | 2063,63                       | 2,12    | 1,65    |
| <b>ME068</b> | 2944,63                       | 2,12    | 1,59    |
| <b>ME069</b> | 1245,37                       | 2,06    | 1,49    |
| <b>ME070</b> | 3248                          | 1,12    | 0,73    |
| <b>ME071</b> | 2756,8                        | 2,04    | 1,3     |
| <b>ME072</b> | 1724,4                        | 1,86    | 1,07    |
| <b>ME073</b> | 2440,43                       | 2       | 1,25    |
| <b>ME074</b> | 3927,67                       | 2,03    | 1,47    |
| <b>ME075</b> | 2143                          | 1,94    | 1,15    |
| <b>ME076</b> | 2461,27                       | 2,09    | 1,64    |

...Continuación Tabla C9

| Código       | Conc. ácidos nucleicos(ng/μl) | 260/280 | 260/230 |
|--------------|-------------------------------|---------|---------|
| <b>ME077</b> | 2448,6                        | 2,07    | 1,57    |
| <b>ME078</b> | 1439,73                       | 1,83    | 1       |
| <b>ME079</b> | 2517,87                       | 2,05    | 1,55    |
| <b>ME080</b> | 1641                          | 1,98    | 1,15    |
| <b>ME081</b> | 2230,4                        | 2,14    | 1,68    |
| <b>ME082</b> | 2538,63                       | 2,09    | 1,4     |
| <b>ME083</b> | 3128,07                       | 2,09    | 1,38    |
| <b>ME084</b> | 2068,73                       | 2,07    | 1,36    |
| <b>ME085</b> | 2527,17                       | 2,06    | 1,39    |
| <b>ME086</b> | 2826,97                       | 2,06    | 1,41    |
| <b>ME087</b> | 3218,7                        | 2,1     | 1,4     |
| <b>ME088</b> | 3344,73                       | 2,05    | 1,34    |
| <b>ME089</b> | 3180,77                       | 2,06    | 1,34    |
| <b>ME090</b> | 2340,27                       | 2       | 1,25    |
| <b>ME091</b> | 2576,1                        | 1,94    | 1,23    |
| <b>ME092</b> | 2998,35                       | 2,06    | 1,35    |
| <b>ME093</b> | 2529                          | 1,91    | 1,19    |
| <b>ME094</b> | 3206,7                        | 2,07    | 1,34    |

# **ANEXO D ANÁLISIS DE RESULTADOS**





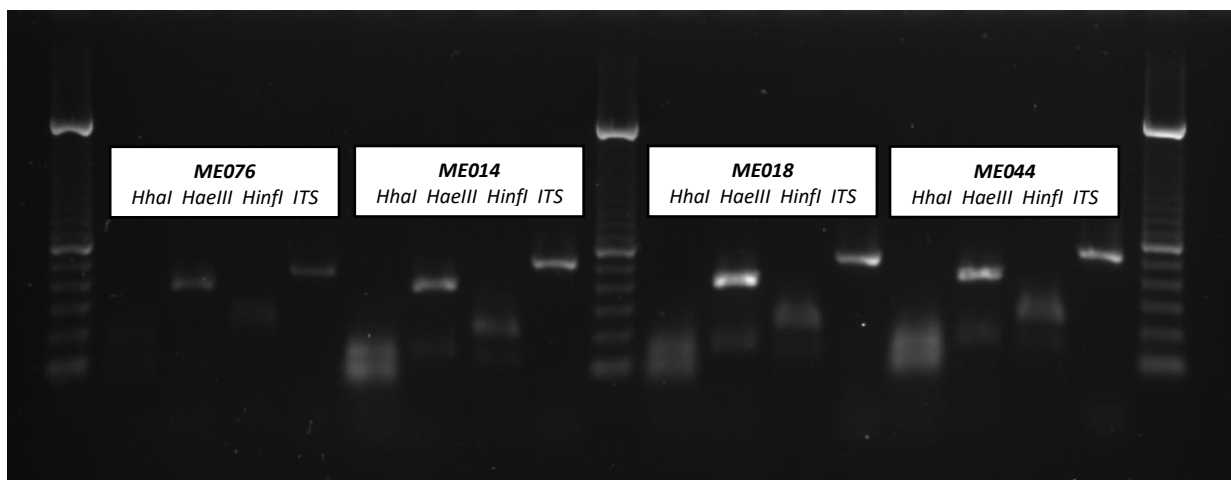




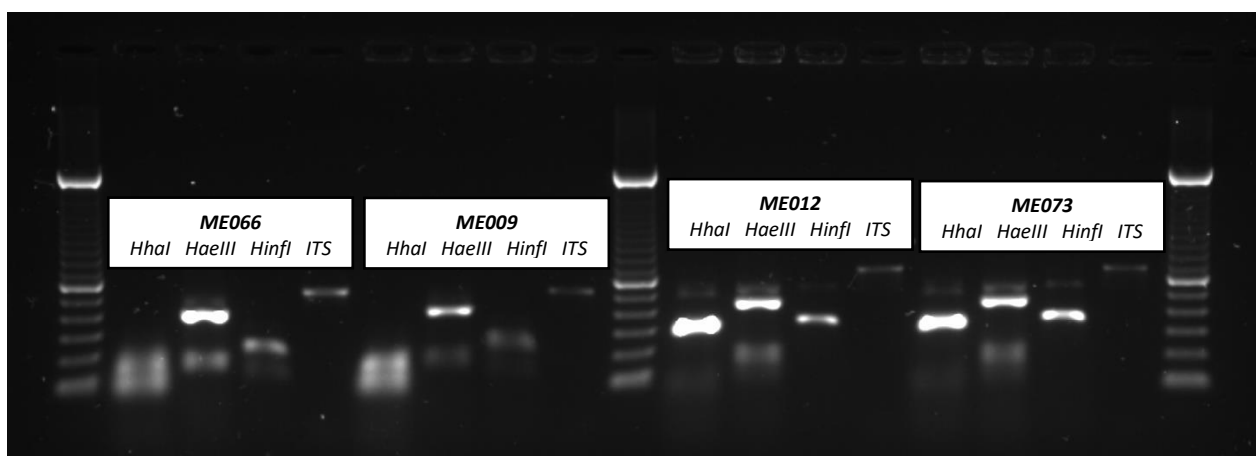


# **ANEXO E GRÁFICOS**

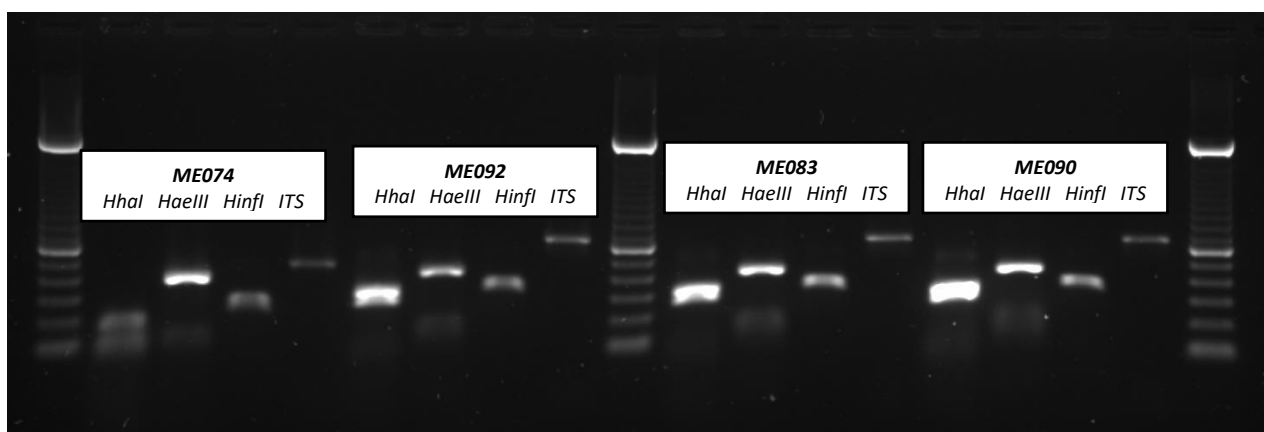
**Gráfico E1.** Fotografía en gel de electroforesis para los fragmentos de restricción de las cepas ME076, ME014 ME018 y ME074



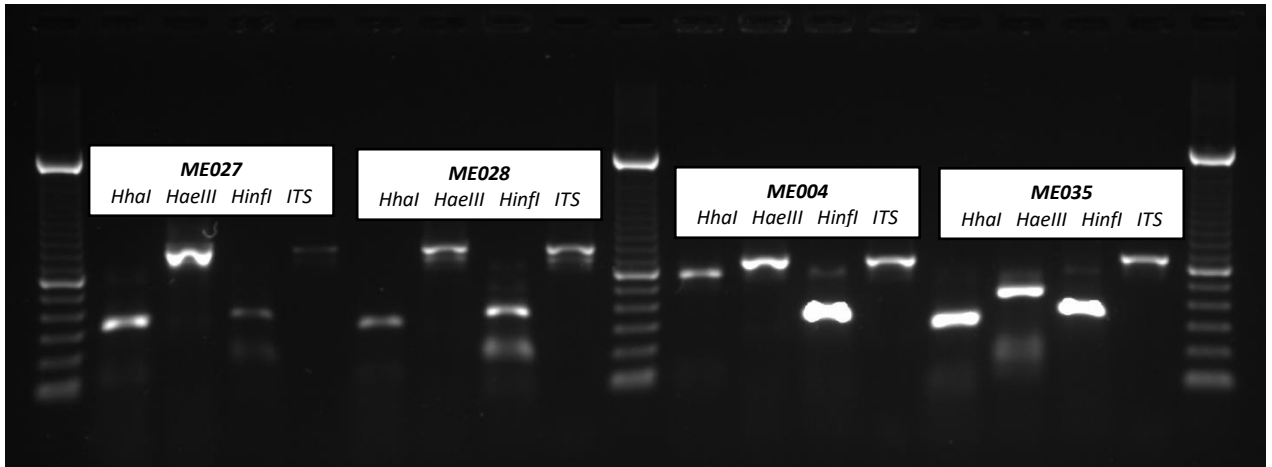
**Gráfico E2.** Fotografía en gel de electroforesis para los fragmentos de restricción de las cepas ME066, ME009, ME012, ME073



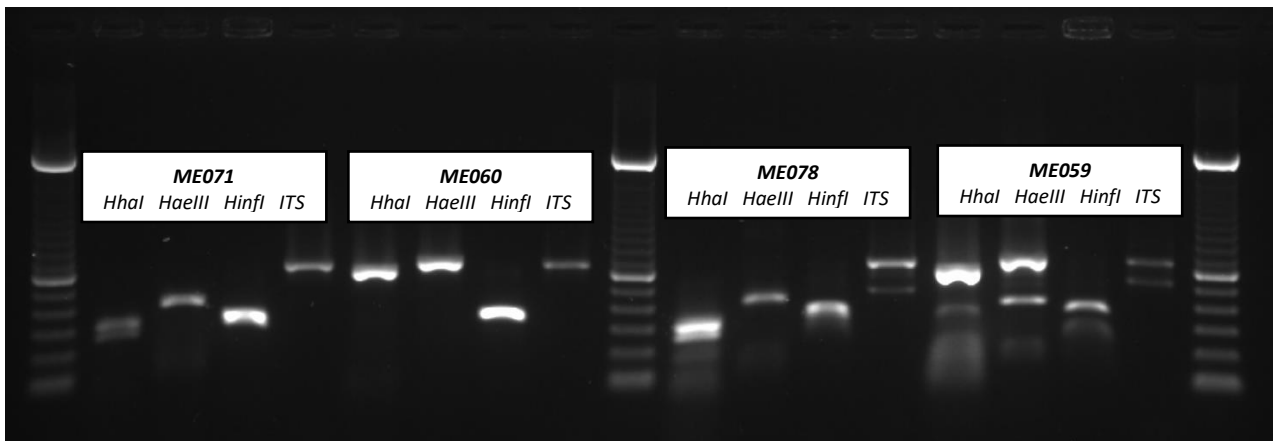
**Gráfico E3.** Fotografía en gel de electroforesis para los fragmentos de restricción de las cepas ME074, ME092, ME083, ME090.



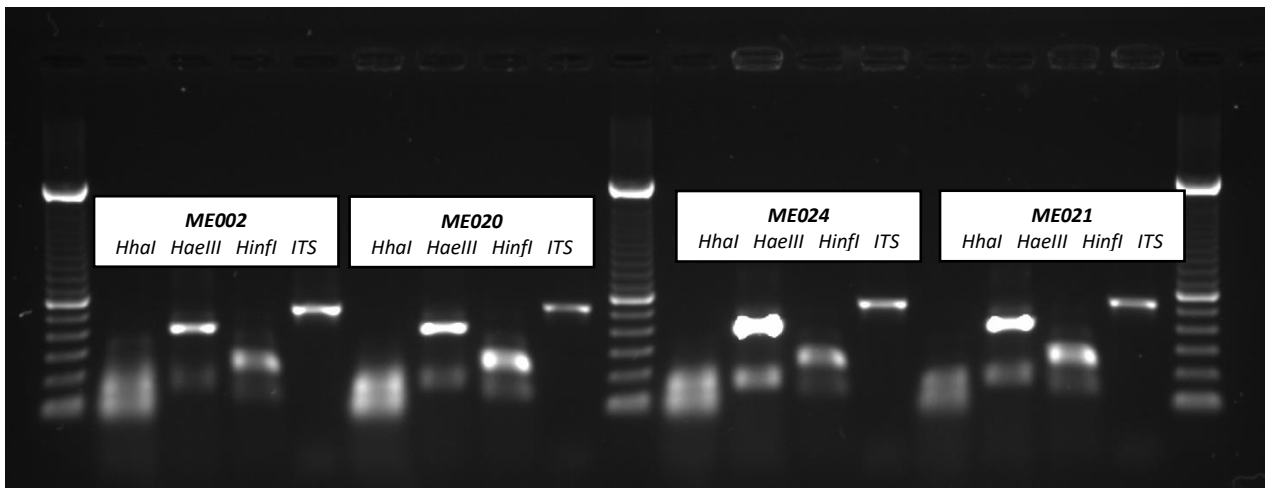
**Gráfico E4.** Fotografía en gel de electroforesis para los fragmentos de restricción de las cepas ME027, ME028, ME004, ME035.



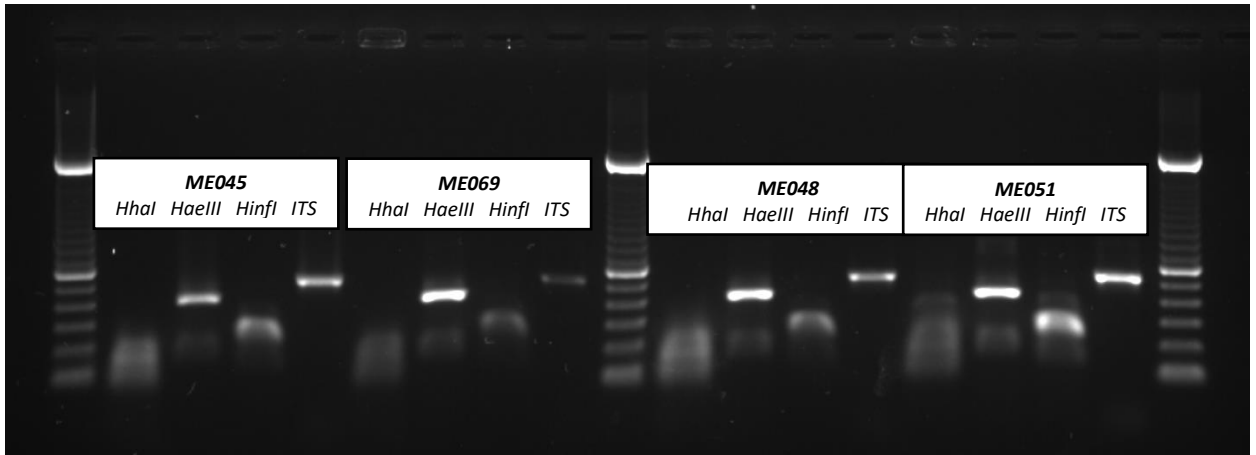
**Gráfico E5.** Fotografía en gel de electroforesis para los fragmentos de restricción de las cepas ME071, ME060, ME078, ME059.



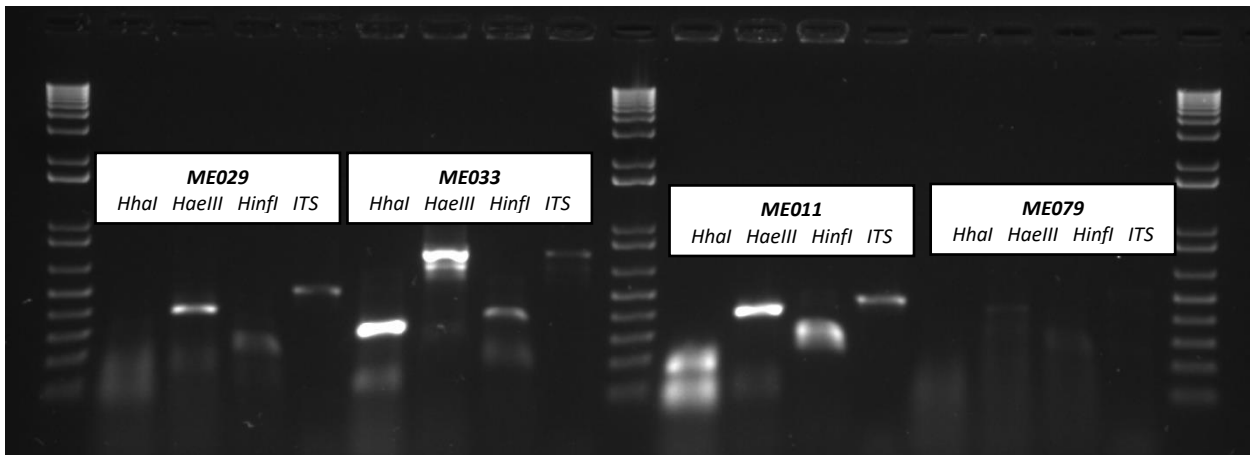
**Gráfico E6.** Fotografía en gel de electroforesis para los fragmentos de restricción de las cepas ME002, ME020, ME024, ME021.



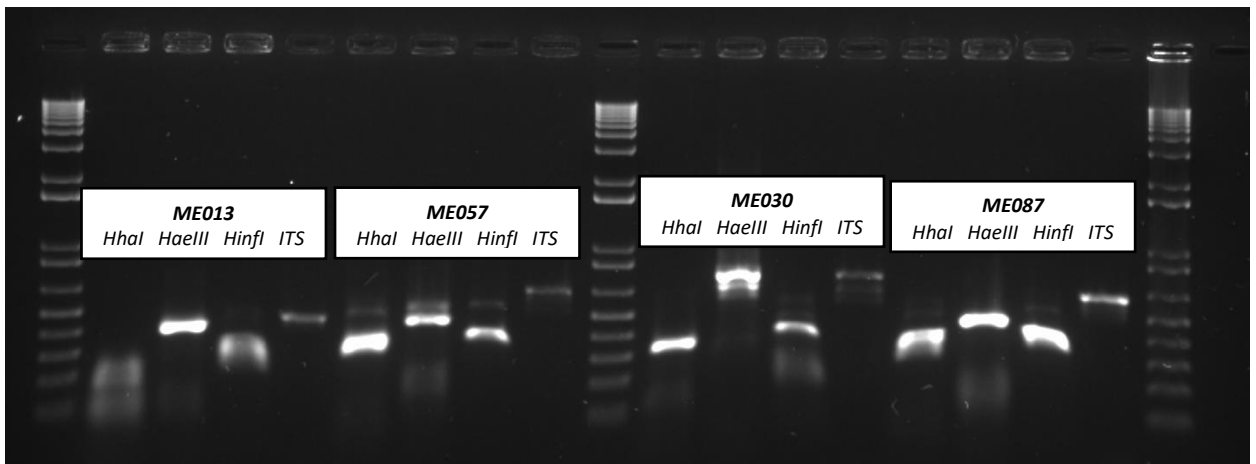
**Gráfico E7.** Fotografía en gel de electroforesis para los fragmentos de restricción de las cepas ME045, ME069, ME048, ME051.



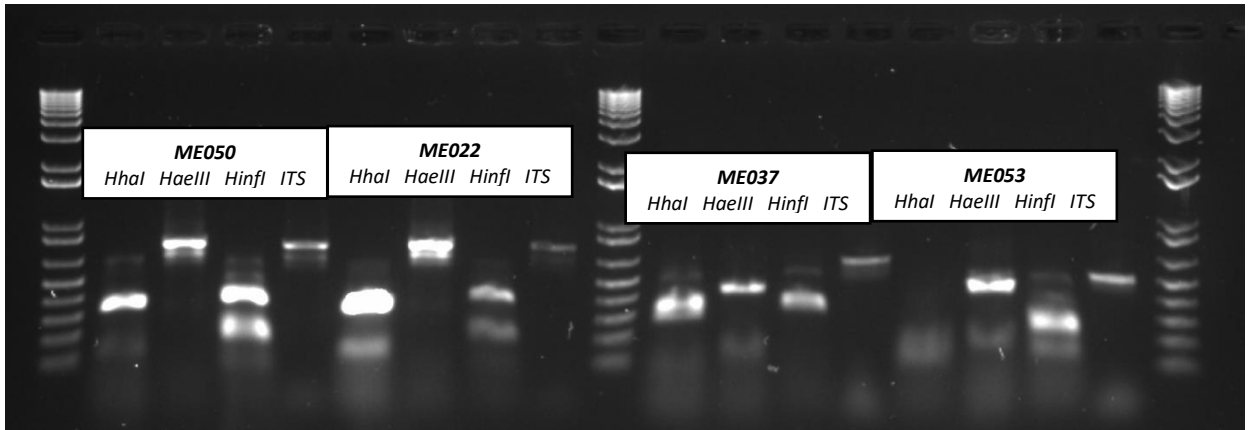
**Gráfico E8.** Fotografía en gel de electroforesis para los fragmentos de restricción de las cepas ME029, ME033, ME011, ME079.



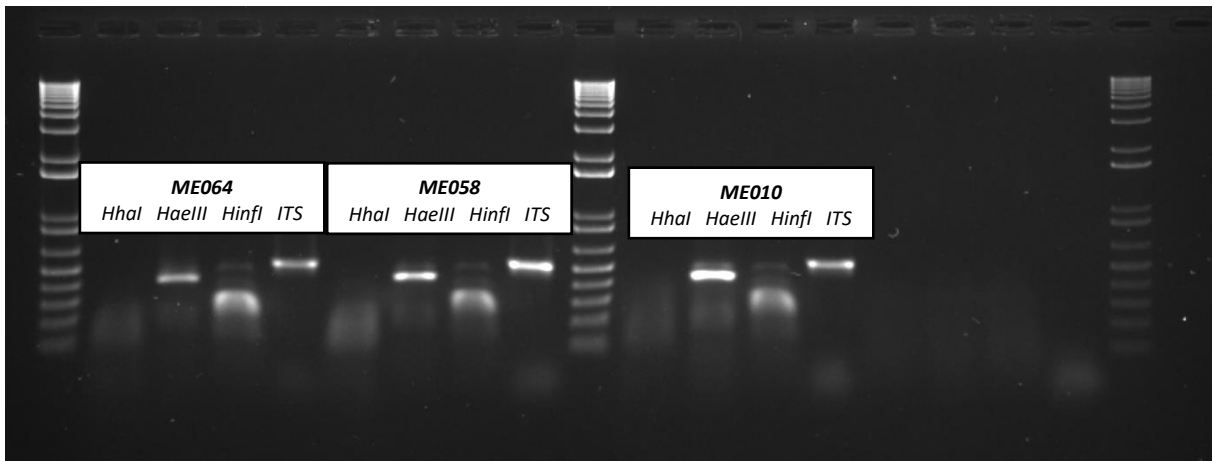
**Gráfico E9.** Fotografía en gel de electroforesis para los fragmentos de restricción de las cepas ME013, ME057, ME030, ME087.



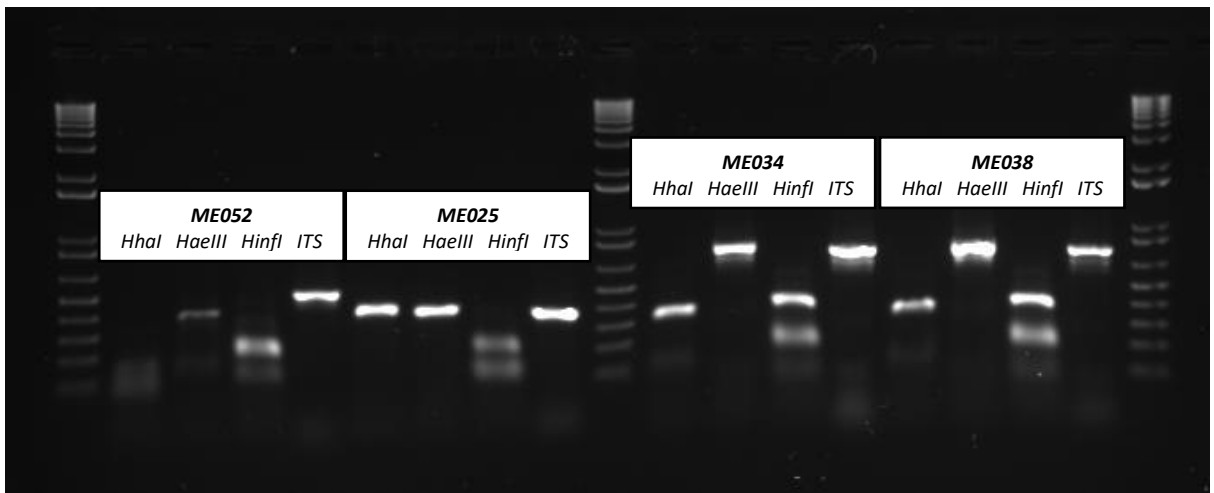
**Gráfico E10.** Fotografía en gel de electroforesis para los fragmentos de restricción de las cepas ME050, ME022, ME037, ME053.



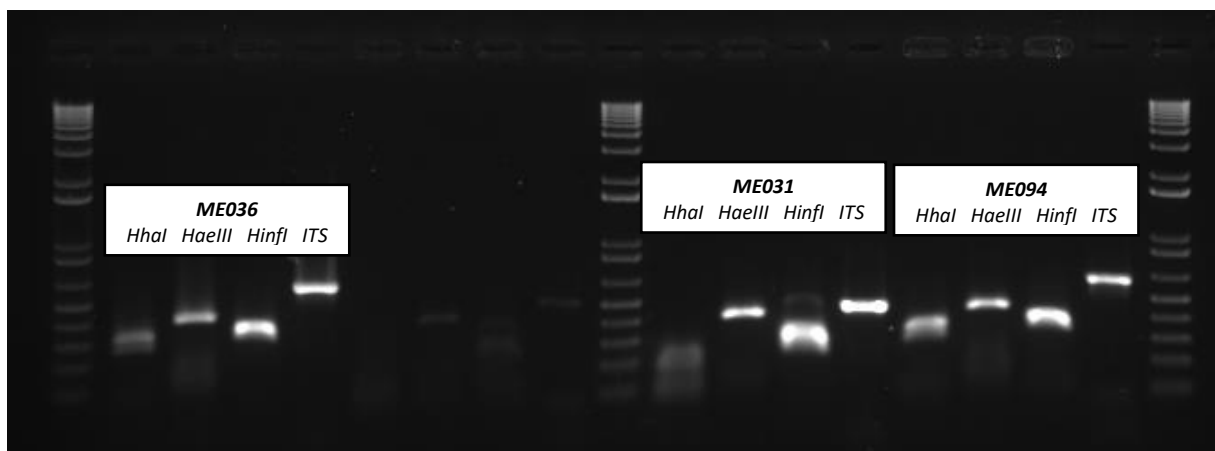
**Gráfico E11.** Fotografía en gel de electroforesis para los fragmentos de restricción de las cepas ME064, ME058, ME010.



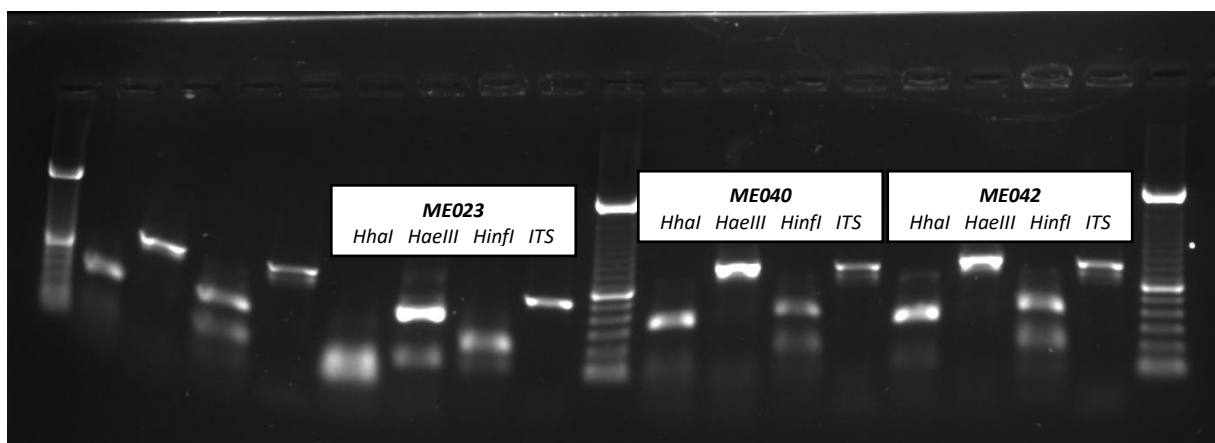
**Gráfico E12.** Fotografía en gel de electroforesis para los fragmentos de restricción de las cepas ME052, ME025, ME034, ME038.



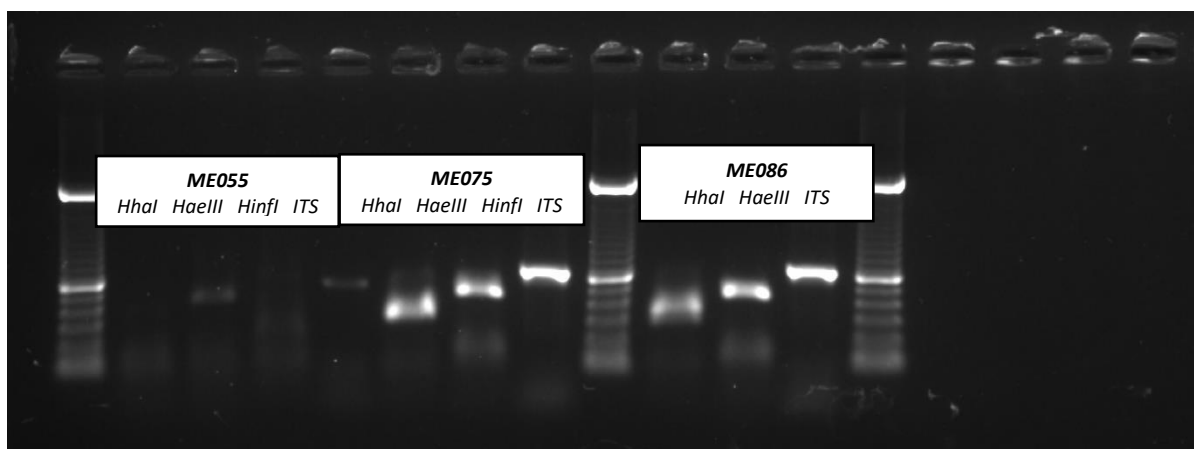
**Gráfico E13.** Fotografía en gel de electroforesis para los fragmentos de restricción de las cepas ME036, ME031, ME094.



**Gráfico E14.** Fotografía en gel de electroforesis para los fragmentos de restricción de las cepas ME023, ME040, ME042.



**Gráfico E15.** Fotografía en gel de electroforesis para los fragmentos de restricción de las cepas ME055, ME075, ME086.





# **ANEXO F**

# **FOTOGRAFÍAS**

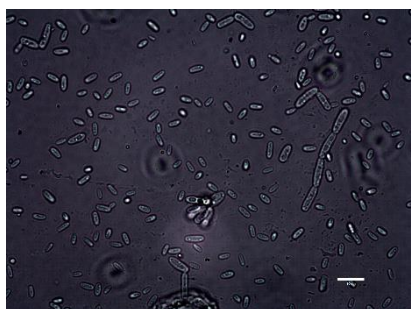
**Tabla F1.** Aislamiento selectivo de levaduras



**Tabla F2.** Caracterización macroscópica



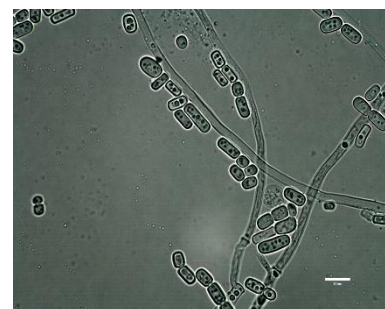
**Tabla F3.** Caracterización microscópica



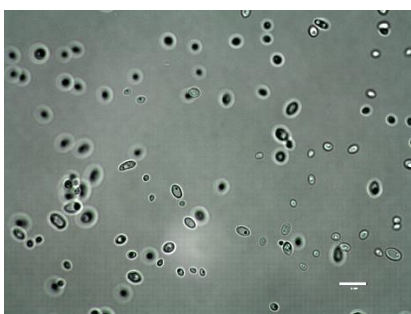
ME001



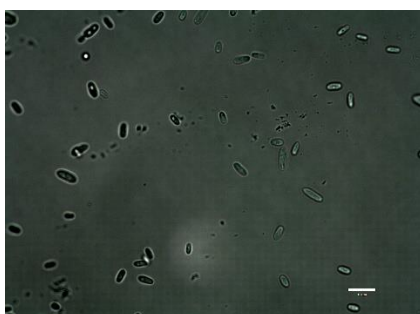
ME008



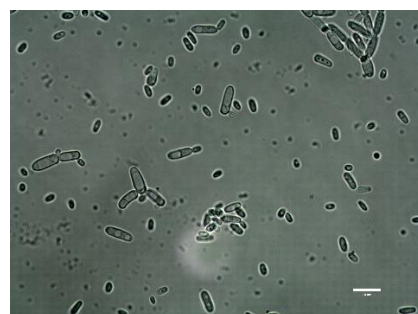
ME025



ME036

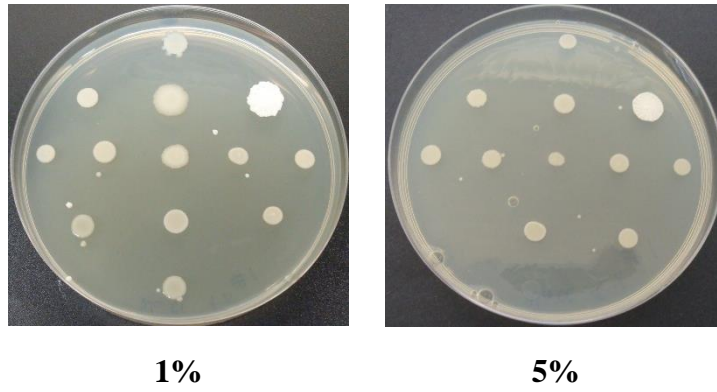


ME045

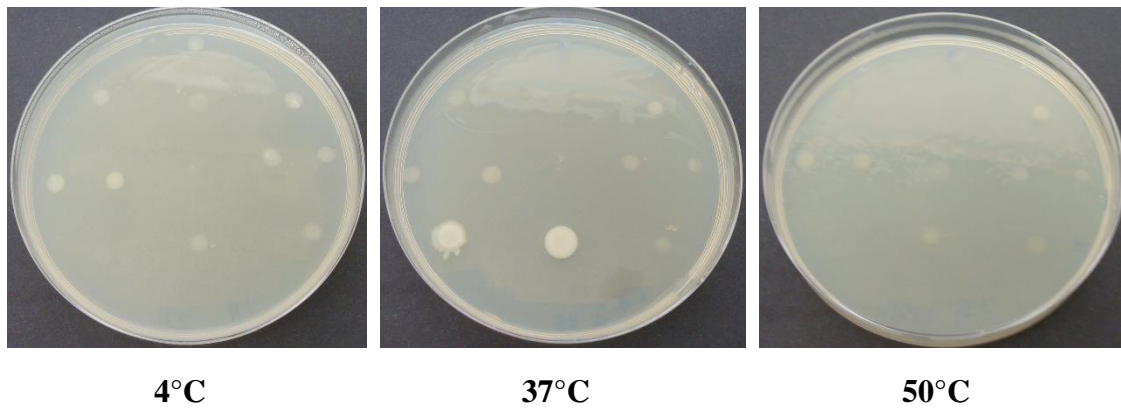


ME047

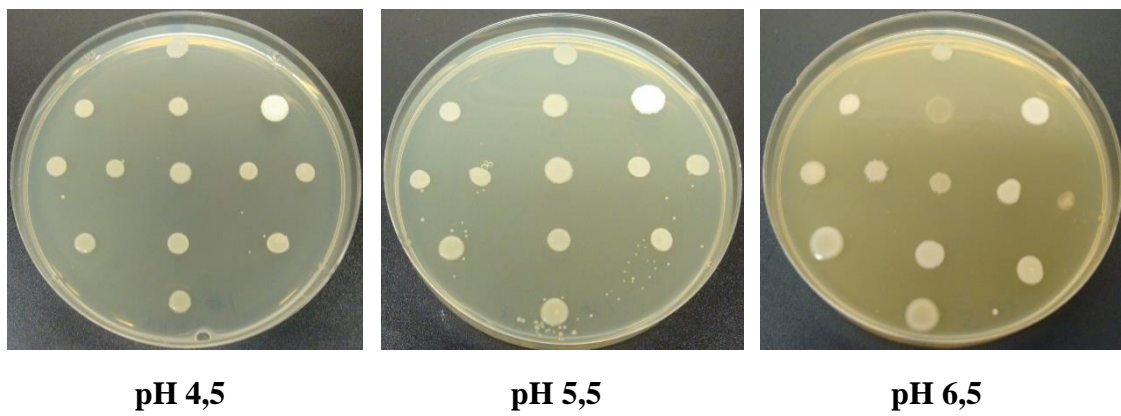
**Tabla F4.** Crecimiento a diferentes porcentajes de salinidad

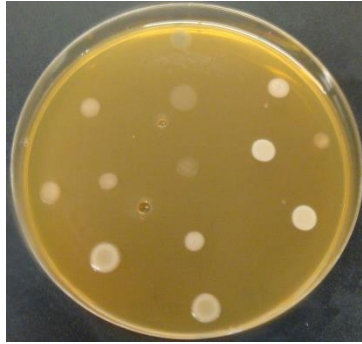


**Tabla F5.** Crecimiento a diferentes temperaturas



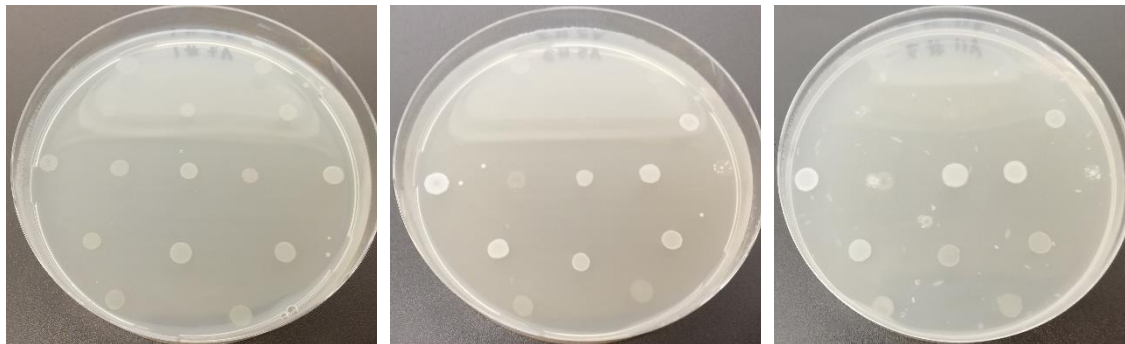
**Tabla F6.** Crecimiento a distintos pH





**pH 7,5**

**Tabla F7.** Utilización de aminoácidos como única fuente de carbono y nitrógeno



**Tabla F8.** Utilización de aminoácidos como única fuente de carbono

