

Evaluación de medios de cultivo naturales para el mantenimiento de *Colletotrichum* sp., y *Saccharomyces cerevisiae*

Evaluation of natural culture media for the maintenance of *Colletotrichum* sp., and *Saccharomyces cerevisiae*

Clara Romero Barranco, Laura Aguirre Pérez, Nestor Plata Alfaro, Jayr Yepes Escorcía
Departamento de Microbiología, Universidad Popular del Cesar, Valledupar, Colombia
Correo-e: jayryepes@unicesar.edu.co

Resumen— En este trabajo se evaluó la productividad, selectividad y efecto del pH de medios de cultivo naturales para el mantenimiento de *Colletotrichum* sp., y *Saccharomyces cerevisiae*. La productividad y selectividad se determinó mediante el método ecométrico y medición de crecimiento radial, el efecto del pH por espectrofotometría y crecimiento micelial. Los medios no fueron selectivos y resultaron altamente productivos para la recuperación de la levadura, con mejores resultados en la concentración de 5% en todos los casos, mientras que para el moho el mejor resultado se mostró en las concentraciones de 10 y 20%, el pH no causó alteraciones marcadas en el crecimiento de *Colletotrichum* sp., y la levadura evaluada. Los medios de cultivo naturales evaluados no fueron selectivos, pero permitieron el crecimiento y desarrollo adecuado para *Colletotrichum* sp., y *Saccharomyces cerevisiae* lo que indica que su aporte nutricional es comparable al de los medios de cultivo comerciales.

Palabras clave— *Colletotrichum*, Medios naturales, Método ecométrico, Productividad, *S. cerevisiae*.

Abstract— In this paper the productivity, selectivity and effect of the pH of natural culture media for the maintenance of *Colletotrichum* sp., and *Saccharomyces cerevisiae* were evaluated. The productivity and selectivity were determined by the ecometric method and by measuring the radial growth, the pH effect by spectrophotometry and mycelial growth. The media were not selective and were highly productive for yeast recovery, with best results at 5% concentration in all cases, while for mold the best result was at 10 and 20% concentrations, pH levels did not cause marked alterations in the growth of *Colletotrichum* sp., And the evaluated yeast. The natural culture media evaluated were not selective, but allowed adequate growth and development for *Colletotrichum* sp., and *Saccharomyces cerevisiae* indicating that their nutritional contribution is comparable to that of commercial growing media.

Key Word — *Colletotrichum*, Ecometric method, Natural media, Productivity, *S. cerevisiae*.

I. INTRODUCCIÓN

El mantenimiento in vitro de microorganismos requiere el uso de medio de cultivos que suministren tanto los nutrientes como las condiciones necesarias para la multiplicación de estos. Deben controlarse factores como temperatura, disponibilidad de oxígeno, pH, condiciones osmóticas, entre otros [1]. A escala de laboratorio se suelen usar medios comerciales, sin embargo, cuando es un proceso rutinario de alto volumen, los costos de los medios de cultivo pueden constituir una limitante para la investigación científica y el sostenimiento de cepas microbianas en laboratorios. Por este motivo se plantea el uso complementario de medios de cultivo a partir de subproductos agroindustriales, los cuales son de fácil adquisición y tienen alta disponibilidad, lo que disminuye el costo final del medio [2].

Los medios complejos pueden ser tan productivos como los medios definidos y en algunos casos mejores [3][4], ya que son capaces de favorecer el crecimiento de microorganismos de difícil aislamiento, aumentar la probabilidad de adaptación al simular las condiciones ambientales en las que se encuentran las cepas nativas [5].

Entre los sustratos reportados para la elaboración de medios de cultivo naturales se encuentran la pulpa de café [6], melaza de caña, suero lácteo [7], col silvestre, lechuga y cebollín; los cuales han demostrado alta productividad que permite el mantenimiento de diversos tipos de microorganismos [8] y en particular los que crecen de forma nativa en dichos sustratos [9][4].

Aunque los medios complejos a partir de residuos agroindustriales se utilizan para bacterias, pueden resultar más apropiados para la propagación de hongos, debido a su versatilidad en el uso de fuentes de carbono complejas, pocos

requerimientos nutricionales y su amplio rango de crecimiento en la mayoría de factores ambientales como pH, temperatura, disponibilidad de agua y oxígeno [10].

Para validar un medio de cultivo es necesario verificar su calidad y capacidad de recuperar los microorganismos, mediante métodos que evalúen su productividad y selectividad, las cuales están condicionadas por la composición del sustrato y factores ambientales [11][12]. La productividad es la capacidad que tiene un medio de cultivo para favorecer o sustentar el desarrollo de un microorganismo y la selectividad es la propiedad de un medio de cultivo de suprimir el crecimiento de un microorganismo interferente o indeseado [13][14].

Cabe resaltar que el pH constituye un factor fundamental que interviene en el crecimiento microbiano, donde la mayoría se desarrolla mejor en medios con pH neutro, no obstante, los hongos son capaces de desarrollarse en medios ácidos, por tanto al igual que los mohos, las levaduras se desarrollan mejor a pH ácido entre 3,8 y 5,6. Sin embargo las levaduras pueden tolerar un rango entre 2,0 y 8,0 [15]. En este trabajo se evaluó la productividad, selectividad y efecto del pH de medios de cultivo naturales para el mantenimiento de *Colletotrichum* sp., y *Saccharomyces cerevisiae*.

II. METODOLOGÍA

Los ensayos se realizaron en el laboratorio de la planta de tratamiento de agua potable de Valledupar y en el laboratorio principal de microbiología de la Universidad Popular del Cesar, ubicados en Valledupar - Cesar, Colombia. Se utilizó una cepa de *Colletotrichum* sp., y una de *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 4098, pertenecientes a la colección de cepas del laboratorio de microbiología de la Universidad Popular del Cesar.

A. Medios de cultivo.

Los sustratos evaluados fueron: Pulpa de mango (*Mangifera indica* L.) y semilla de orejero (*Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb.) propios de la ciudad de Valledupar; cáscara de piña obtenida de los residuos generados en una fábrica de mermelada de piña ubicada en Valledupar y cabecita de arroz del mercado público de Valledupar.

Para la elaboración de los medios de cultivo se tomaron las semillas de orejero y cáscaras de piña, se hirvieron en suficiente agua hasta ablandar, la cabecita de arroz se pesó y se sumergió en agua para ablandar y al mango se le quitó la cáscara para obtener la pulpa; se tomó 25 g de cada sustrato, se licuó con agua, se filtró con gasas, posteriormente se añadió 15 g/L de agar-agar, se llevó a volumen de 1L con agua destilada y se disolvió por calentamiento, para una concentración de 2,5 %, de igual forma y guardando la proporción fueron preparadas las concentraciones 5, 10 y 20

% (p/v) de cada sustrato, se ajustó el pH a 5.6 y se esterilizó en autoclave a 121°C por 15 minutos, se añadió 300 mg/L de cloranfenicol a los medios de cultivo donde se evaluaron mohos y se sirvió 20 ml de cada medio en cajas de Petri por triplicado. [16][17][18][2]. De igual forma se prepararon medios comerciales como control (Extracto de malta y YGC). Para efectos prácticos, los medios de cultivo naturales fueron nombrados: semilla de orejero (SO), cabecita de arroz (CA), cáscara de piña (CP) y pulpa de mango (PM) en las concentraciones 2,5, 5, 10 y 20 % p/v por cada medio.

Para la elaboración de medios líquidos se siguió el mismo procedimiento para medios sólidos, sin la adición de agar bacteriológico y con la clarificación de los caldos mediante centrifugación a 1500 RPM, durante 10 minutos, para eliminar los sólidos suspendidos y disminuir las interferencias al medir la absorbancia, luego se sirvió 5 ml de caldo en tubos de ensayo de 8 ml y se autoclavó a 121°C por 15 minutos [19].

B. Determinación de la productividad y selectividad de los medios naturales.

La productividad y selectividad de los medios naturales se determinó por el método ecométrico [20]; los agares YGC y extracto de malta fueron utilizados como referencia. La productividad se expresa por medio del índice de crecimiento absoluto (ICA) e índice de crecimiento relativo (ICR), el ICA se interpreta según la siguiente clasificación: ICA = 0 (medios no productivos), ICA < 2,5 (poco productivos), ICA = 2,5 - 4,5 (medianamente productivos) e ICA > 4,5 (altamente productivos) y el ICR debe estar por encima de 0,95 - 1; por último la selectividad se establece acorde a los siguientes valores: ICA = 0 (medios altamente selectivos), ICA = 0 - 2,5 (medianamente selectivos) e ICA > 2,5 (medios no selectivos) [2].

C. Evaluación del crecimiento radial de *Colletotrichum* sp.

Para esto se tomaron discos de micelio de 6mm de diámetro procedentes de un cultivo monospórico de siete días de incubación y se colocaron en el centro de las cajas de Petri con el medio a evaluar, se incubó de 28-30°C en oscuridad y se determinó el crecimiento radial mediante la medición del diámetro de las colonias, hasta alcanzar el total de la caja, esta medición se comparó con el diámetro obtenido del medio de cultivo control (YGC) [21][9][4].

D. Evaluación del efecto del pH en el crecimiento de *Colletotrichum* sp., y *Saccharomyces cerevisiae*.

Se tomó la concentración en la que se evidenció un mejor desarrollo de los microorganismos evaluados en medios sólidos y se ajustó el pH a tres niveles (5.0, 5.6 y 6.5) con HCl y NaOH 1N [22]. Para el caso de *S. cerevisiae* se usó medios líquidos a los que se ajustó el pH a los diferentes niveles, este ensayo se llevó a cabo en tubos de ensayo con 5 ml de caldo

clarificado, por triplicado y se usó un tubo con caldo de cada sustrato sin inocular, como blanco para la medición de absorbancia; se inoculó 0.3 ml del cultivo a partir de un tubo con absorbancia de 0.9, luego se midió la absorbancia de todos los tubos a 600nm para la hora inicial (H_0) y se incubó a 30°C por 24 horas. Transcurrido el tiempo de incubación se midió la absorbancia para obtener la hora final (H_f) y se calculó el crecimiento celular por diferencia de absorbancia de hora inicial (H_0) y hora final (H_f) [23]. Para la evaluación de pH en *Colletotrichum sp.*, se empleó medios sólidos ajustados a los diferentes pH, por triplicado y se siguió el procedimiento descrito en la evaluación del crecimiento radial [22][4].

E. Análisis estadístico.

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar y se aplicó análisis de varianza (ANOVA) y comparación de medias por la prueba de Tukey para determinar diferencias significativas entre tratamientos con una confianza del 95% mediante el programa estadístico Minitab 17.

III. RESULTADOS

A. Productividad de los medios naturales.

Según los resultados obtenidos con el método ecométrico, los medios de cultivo CA, CP y SO resultaron altamente productivos en todas las concentraciones para *S. cerevisiae* (Tabla 1), por otro lado el ICR obtenido con la cepa demostró la capacidad que tienen estos medios para recuperar al microorganismo evaluado y que la levadura no tiene ningún problema de crecimiento. En los medios de cultivo a base de pulpa de mango, se observó mejor desempeño de la levadura en las concentraciones 2,5 y 5%, mientras que en los medios PM 10 % y PM 20 % se obtuvo un ICA de 4,3, lo que califica estos medios como medianamente productivos y con porcentaje de recuperación menor a los controles EM y YGC (Tabla 1 y 2); sin embargo los medios presentaron ICA por encima de 2,5 por lo que pueden ser usados para el desarrollo de la levadura.

Medio	Concentración	ICA
SO	2,5%	5,0 ± 0,0
	5,0%	5,0 ± 0,0
	10%	5,0 ± 0,0
	20%	4,7 ± 0,6
CA	2,5%	5,0 ± 0,0
	5,0%	5,0 ± 0,0
	10%	5,0 ± 0,0
	20%	5,0 ± 0,0
CP	2,5%	4,8 ± 0,2
	5,0%	4,9 ± 0,2
	10%	4,9 ± 0,1
	20%	4,9 ± 0,1

PM	2,5%	5,0 ± 0,0
	5,0%	5,0 ± 0,0
	10%	4,3 ± 0,8
	20%	4,3 ± 0,7
Controles	EM	4,7 ± 0,6
	YGC	4,9 ± 0,1

Tabla 1. ICA de los medios de cultivo para *S. cerevisiae* ($\bar{x} \pm \sigma$)

Medio control EM		
Medio	Concentración	ICR
SO	2,5%	1,1
	5,0%	1,1
	10%	1,1
	20%	1,0
CA	2,5%	1,1
	5,0%	1,1
	10%	1,1
	20%	1,1
CP	2,5%	1,0
	5,0%	1,0
	10%	1,0
	20%	1,0
PM	2,5%	1,1
	5,0%	1,1
	10%	0,91
	20%	0,91
Medio control YGC		
SO	2,5%	1,0
	5,0%	1,0
	10%	1,0
	20%	0,96
CA	2,5%	1,0
	5,0%	1,0
	10%	1,0
	20%	1,0
CP	2,5%	0,98
	5,0%	1,0
	10%	1,0
	20%	1,0
PM	2,5%	1,0
	5,0%	1,0
	10%	0,88
	20%	0,88

Tabla 2. ICR de los medios de cultivo para *S. cerevisiae*

De acuerdo a los resultados obtenidos, puede inferirse que los medios de cultivo naturales permiten el crecimiento y desarrollo adecuado para la levadura, debido a su compleja composición y disponibilidad de nutrientes en concentraciones necesarias, con un aporte nutricional comparable al de los medios de cultivo comerciales o sintéticos como lo demuestran [2] al obtener medios a base de guayaba agria altamente productivos, con ICA = 4,8 evaluando *Candida guilliermondii* en el medio MGa 25% y un

ICR = 1 en comparación al medio control (EM), con mejores resultados para *Candida famata* y *Candida* sp., en el medio MGa 5% con ICA de 4,6 e ICR = 0,96. De igual forma [24], obtuvieron mayor número de UFC en medios a base de semillas vegetales que en el medio comercial MRS.

A pesar de que los medios de cultivo no mostraron diferencias relevantes entre tratamientos para la recuperación de la levadura estudiada, se evidenció una disminución de la productividad en las concentraciones 10 y 20% del medio PM, lo que concuerda con lo reportado por [8], quienes al evaluar un medio de cultivo en base a residuos sólidos vegetales en concentraciones de 75, 50 y 25 % (p/v) con la bacteria *Azotobacter* sp., encontraron mejores resultados en el medio MRSV-25%, como también [2] evaluando el medio de cultivo a base de guayaba agria a concentraciones de 5, 10, 25 y 50 % utilizando levaduras nativas del género *Candida*, obtuvieron mejores resultados en la concentración de 25 % con *Candida guilliermondii* y en la de 5 % con *Candida famata* y *Candida* sp., variando según los requerimientos de la especie y tipo de microorganismos a tratar.

B. Selectividad de los medios naturales.

Teniendo en cuenta que los mejores resultados de productividad se obtuvieron en la concentración de 5%, se escogió esta concentración para evaluar la selectividad de los medios de cultivo naturales, los resultados se resumen en la tabla 3.

Medios	ICA	
	Interferentes	
	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>
SO 5%	5,0 ± 0,0	5,0 ± 0,0
CA 5%	5,0 ± 0,0	5,0 ± 0,0
CP 5%	4,4 ± 1,0	5,0 ± 0,0
PM 5%	2,6 ± 1,2	5,0 ± 0,0

Tabla 3. Selectividad de los medios de cultivo naturales ($\bar{x} \pm \sigma$)

De la tabla 3 se puede deducir que los medios de cultivo naturales no fueron selectivos al igual que los medios a base de guayaba agria evaluados por [2] quienes usaron *Escherichia coli* como interferente; sin embargo en los medios CP 5% y PM 5% *P. aeruginosa* ATCC 9721 presentó un ICA de 4,4 y 2,6 respectivamente, lo que puede atribuirse al pH de los medios de cultivo el cual fue ajustado 5.6 puesto que su finalidad era el desarrollo de hongos, siendo un pH cercano al mínimo al que *Pseudomonas* puede desarrollarse (pH = 5.5), además *P. aeruginosa* no crece en condiciones ácidas (pH ≤ 4.5) y requiere preferiblemente pH neutro [25] Es de resaltar que la selectividad de un medio de cultivo se consigue al modificar factores implicados en el crecimiento microbiano, adicionar suplementos específicos e inducir condiciones favorables para el microorganismo deseado y limitar la colonización de cepas interferentes[13][2].

C. Crecimiento radial de *Colletotrichum* sp.

Colletotrichum sp., alcanzó el crecimiento máximo al día siete en el medio PM 20%, con diferencias significativas respecto a los demás medios (Tabla 4), lo que puede estar relacionado al hecho de que este hongo es patógeno del mango (*Mangifera indica* L.) [26], además que este sustrato es una fuente importante de carbohidratos, vitaminas, proteínas, fibra y oligoelementos [27][28][29][30], sin embargo el micelio del hongo fue escaso; en los medios cáscara de piña y cabecita de arroz *Colletotrichum* sp., tuvo un crecimiento en relación directa a la concentración del sustrato, superó el crecimiento obtenido en el medio control y no presentó diferencias significativas entre dichos medios (Tabla 4).

En los medios de semilla de orejero, el crecimiento del hongo no tuvo una tendencia según el aumento de la concentración, lo que pudo deberse a que *Colletotrichum* sp., es un género que posee condiciones de desarrollo muy variables y pueden afectarse dependiendo del medio donde se cultive, de la cantidad de azúcares disponibles y la temperatura a la que es sometido durante su crecimiento, lo que se ve reflejado en el tamaño, tipo, aspecto y coloración del micelio [31].

Medio	Concentración	Radio (mm)
CP	2,5%	42,0 ± 0,3 bc
	5,0%	42,6 ± 1,7 bc
	10%	42,7 ± 0,9 bc
	20%	42,7 ± 0,4 bc
CA	2,5%	42,1 ± 0,4 bc
	5,0%	42,7 ± 1,2 bc
	10%	43,0 ± 0,6 b
	20%	43,3 ± 0,6 b
SO	2,5%	39,3 ± 1,3 e
	5,0%	40,0 ± 1,2 de
	10%	38,9 ± 2,1 e
	20%	36,6 ± 2,0 f
PM	2,5%	32,4 ± 1,9 g
	5,0%	41,1 ± 0,7 cd
	10%	41,9 ± 0,8 bc
	20%	47,0 ± 0,0 a
YGC		41,9 ± 0,9

Tabla 4. Crecimiento radial de *Colletotrichum* sp., (día 7).

El crecimiento micelial de *Colletotrichum* sp., pudo verse afectado por la temperatura de incubación (28 °C), puesto que las temperaturas en el rango de 20 – 25°C son más favorables para el crecimiento y esporulación de este género fúngico, como lo demuestran [32], sin embargo el diámetro de las colonias de *Colletotrichum* sp., obtenido al sexto día de incubación en cada medio de cultivo evaluado, fue similar al obtenido por [21] con *C. gloeosporioides* en PDA incubado a 25°C bajo condiciones de oscuridad, lo que demuestra la similitud nutricional de los medios de cultivo naturales frente

a los medios comerciales PDA y YGC para el desarrollo de los hongos.

D. Efecto del pH en el crecimiento de *Colletotrichum* sp., y *S. cerevisiae*.

Teniendo en cuenta que el mejor desarrollo del moho fue obtenido en los medios de mayor concentración y que las concentraciones de 10 y 20% no mostraron diferencias relevantes entre sí, se escogió la concentración de 10% para la evaluación del efecto del pH en el crecimiento de *Colletotrichum* sp., mientras que para el caso de *S. cerevisiae* se escogió la concentración de 5% por mostrar los mejores resultados.

Medio	pH	Radio (mm)
CA	5.0	32,3 ± 1,1 a
	5.6	31,7 ± 0,9 ab
	6.5	32,5 ± 0,6 a
PM	5.0	30,8 ± 0,6 b
	5.6	30,7 ± 0,3 b
	6.5	30,8 ± 1,0 b
CP	5.0	29,4 ± 0,9 c
	5.6	29,3 ± 0,4 c
	6.5	28,9 ± 0,1 c
SO	5.0	15,0 ± 0,5 d
	5.6	15,4 ± 1,3 d
	6.5	15,9 ± 0,3 d
YGC		25,2 ± 0,5

Tabla 5. Efecto del pH en el crecimiento de *Colletotrichum* sp., (día 7).

El análisis de varianza y la prueba de Tukey mostraron diferencias significativas entre los cuatro medios evaluados ($p < 0,05$). En cuanto a los niveles de pH estos no fueron significativamente diferentes ($p > 0,05$), lo cual se debe a que estos pH se encuentran dentro del rango en el que *Colletotrichum* sp., se desarrolla mejor [33] y concuerda con lo reportado por [34] quienes al evaluar un rango de pH de 5 a 10, no encontraron diferencias significativas tanto en la densidad como en la velocidad de crecimiento radial del hongo evaluado en el medio de cultivo (EMA). Por otra parte [35] determinaron que el medio EMA a pH 6 favoreció el crecimiento de la mayoría de cepas fúngicas evaluadas.

El crecimiento en los medios probados estuvo por encima del control (YGC) a excepción del medio SO el cual fue el menor de todos y también fue inferior a los resultados obtenidos en la evaluación del crecimiento de *Colletotrichum* sp., en distintas concentraciones de sustratos, por lo que se recomienda evaluar la temperatura de incubación más adecuada para el crecimiento de *Colletotrichum* sp., en los medios CP, CA, SO y PM. Además que para mejorar el aspecto de los medios de cultivo naturales, se eliminó el precipitado formado en los medios antes de la adición del agar agar, siendo el caldo SO el que presentaba más sedimentos.

El pH del medio de cultivo es determinante en el comportamiento *in vitro* de los hongos [36] y el rango de pH para el crecimiento óptimo varía según la especie [37]; aunque el pH es uno de los factores más influyentes en el crecimiento de los microorganismos [34], este factor no puede evaluarse independientemente, puesto que otros factores como temperatura, aireación, humedad entre otros, pueden influir de forma combinada en el desarrollo de los microorganismos [38] como lo demuestran [33] al determinar que *Colletotrichum musae* crece en una amplia variedad de medios de cultivo a pH entre 5-7, aunque la máxima producción de conidios fue obtenida en agar malta a 27 °C en un pH de 5 después de nueve y diez días de incubación.

En cuanto al efecto del pH en el crecimiento de *S. cerevisiae*, el análisis de varianza mostró diferencias significativas entre los medios de cultivo y los niveles de pH ($p < 0,05$) y con la prueba de Tukey se comprobó que los medios CP y PM son significativamente diferentes entre sí, a CA y SO, pero entre estos últimos no hay diferencias significativas; en los niveles de pH la levadura no exhibió tendencia ni tuvo el mismo comportamiento en todos los medios, lo que se observó en la comparación múltiple de la interacción medio*pH (Tabla 6).

Medio	pH	Absorbancia
PM	5.0	0,28 ± 0,003 ab
	5.6	0,29 ± 0,007 a
	6.5	0,24 ± 0,008 b
CP	5.0	0,11 ± 0,013 cd
	5.6	0,13 ± 0,035 c
	6.5	0,10 ± 0,003 cd
CA	5.0	0,067 ± 0,049 def
	5.6	-
	6.5	0,040 ± 0,012 efg
SO	5.0	0,095 ± 0,005 cde
	5.6	0,057 ± 0,002 defg
	6.5	0,016 ± 0,010 fg

Tabla 6. Efecto del pH en el crecimiento de *S. cerevisiae*.

De la tabla 6 se puede deducir que la mayor producción de biomasa de *S. cerevisiae*, se obtuvo a pH ácido (5.0 y 5.6) en todos los medios evaluados, mientras que el menor crecimiento fue a pH de 6.5, esto se debe a que un medio neutro o moderadamente alcalino produce condiciones de estrés a las levaduras, lo cual afecta negativamente su crecimiento y productividad [39][40], además las levaduras producen mayor cantidad de metabolitos como glicerol y etanol a pH bajo [41][42]. Tal como lo afirma [43], quienes concluyeron que *Saccharomyces cerevisiae* produce mayores cantidades de etanol a pH entre 5.0 y 6.0.

Por otro lado [44], determinaron que *Zygosaccharomyces rouxii* tuvo la máxima producción de aceite de fusel a pH

entre 3.0 y 4.0; y [45], establecieron que la levadura *Debaryomyces hansenii* tiene un pH óptimo de crecimiento entre 4.0 y 8.0, produciendo la mayor cantidad de xilitol a pH 4.0; mientras que en el estudio realizado [46], se observó que *S. bayanus var. uvarum* tuvo mayor producción de biomasa a pH de 3.0 a 5.0 en un medio sintético a base de extracto de levadura, glucosa y sulfato de amonio. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por [47], quien tras aislar levaduras de la filósfera de cultivos de mora, evaluó su crecimiento a varios niveles de pH, obteniendo un mejor desarrollo en caldo sabouraud a pH de 3.0 y 4.0.

IV. CONCLUSIONES

Los medios de cultivo naturales evaluados no fueron selectivos, pero permitieron el crecimiento y desarrollo adecuado para *Colletotrichum* sp., y *Saccharomyces cerevisiae* lo que indica que su aporte nutricional es comparable al de los medios de cultivo comerciales y en las concentraciones adecuadas de sustrato pueden ser utilizados para el mantenimiento de estos microorganismos. Los niveles de pH evaluados en los medios de cultivo CP, CA, SO y PM no afectaron notoriamente el crecimiento de los hongos.

Los medios a base de cabecita de arroz, semilla de orejero, cáscara de piña y pulpa de mango, representan una alternativa en la preparación de medios de cultivo para el estudio de los microorganismos, debido a la disponibilidad de los sustratos, su bajo costo y buen aporte nutricional para los microorganismos estudiados. Imponiendo un nuevo uso y valor agregado a los sustratos utilizados y mayor productividad y rentabilidad para la región.

REFERENCIAS

- [1] Pommerville, J., *Fundamentals of Microbiology: Body Systems Edition*, 3rd edition.
- [2] Lara, C. Mendoza, C. y Oviedo, L., “Productividad y selectividad del medio de cultivo a partir de guayaba agria (*Psidium araca*) en el crecimiento de levaduras nativas del genero *Candida* sp.,” *Revista Colombiana de Biotecnología*, vol. 12, pp. 116-123, 2010.
- [3] Ikechi, C. y Nkkem, E., “Potential of Potatoes Latex Culture Medium for Various Fungi,” *Journal of Applied and Industrial Sciences*, vol. 1, pp. 103-107, 2013.
- [4] González, D. Costales, D. y Falcón, A., “Efecto de diferentes medios de cultivo sobre el desarrollo de *Phytophthora nicotianae* Breda de Haan,” *Rev. Protección Vegetal*, vol. 29, pp. 33-41, 2014.
- [5] Li, H. y Pan, G., “Enhanced and continued degradation of microcystins using microorganisms obtained through natural media,” *Journal of microbiological methods*, vol. 96, pp. 73-80, 2014.
- [6] Bermúdez, R., García, N., Serrano, M., Rodríguez, M y Mustelie, I., “Conversión de residuales agroindustriales en productos de valor agregado por fermentación en estado sólido,” *Revista Tecnológica Química*, vol. 34, pp. 263 – 274, 2014.
- [7] Aguilar, J., Espinoza, M., Cabanillas, J., Ávila, I., García, A., Julca, J., Tacanga, D., Zuta, I y Linares, G., “Evaluación de la cinética de crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* utilizando un medio de cultivo a base de melaza de caña y suero lácteo,” *Agroindustrial Science*, vol. 5, pp. 37 – 47, 2015.
- [8] Lara, C. García, L. y Oviedo, L., “Medio de cultivo utilizando residuos-sólidos para el crecimiento de una bacteria nativa con potencial biofertilizante,” *Revista Colombiana de Biotecnología*, vol. 12, pp. 103-112, 2010.
- [9] Vaillant, D. González, M. y Ramírez, R., “Propuesta de medio de cultivo para el estudio de *Phytophthora Nicotianae* Breda de Haan,” *Rev. Cieñ. Tecnol*, vol. 15, pp. 24-27, 2013.
- [10] Tortora, G. Funke, B. & Case, C. *Introducción a la microbiología*, 9a edición.
- [11] Montilla, E. Dulce, M. Quevedo, B. Mercado, M. Álvarez, R. Napoleón Molina, J. y Trespalacios, A., “Efecto del tratamiento alcalino sobre la productividad y las propiedades físicas del agar-agar proveniente de *Gracilaria verrucosa*,” *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras*, vol. 40, pp. 75-88, 2011.
- [12] International Organization for Standardization, *ISO 11133:2014 - Preparation, production, storage and performance testing of culture media*, 1st edition.
- [13] Villalobos, A. Calderón, L. Figueroa, C. Fierro, J. Otalora, G. Alvarez, R. Quevedo, B. Mercado, M. Huertas, M. y Trespalacios, A., “Evaluación por método ecométrico de agar obtenido de algas rojas colombianas,” *Revista de facultad de ciencias*, vol. 12, pp. 57-65, 2007.
- [14] Doyle, M. & Buchanan, R. (2012). *Food Microbiology: Fundamental and frontiers*. 4th edition.
- [15] García, V. 2004. *Introducción a la microbiología*. 2da edición.
- [16] Urcia, F. y Guevara, M., “Eficacia de medios de cultivo con infusiones de variedades de papa en la identificación del *Trichophyton rubrum*,” *Revista Perú Med*, vol. 19, pp. 206-208 2002.
- [17] Fajardo, E. y Sarmiento, S., “Evaluación de melaza de caña como sustrato para la producción de *Saccharomyces*

- cerevisiae*,” Tesis de Titulación, Pontifica Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia, 2007.
- [18] Ukoima, H. Ogbonnaya, L. Arikpo, G. y Ikpe, F., “Cultural studies of Mycelia of *Volvariella volvacea*, *Pleurotus tuber-regium* and *Pleurotus sajor-caju* on different culture media,” *Pakistan journal of nutrition*, vol. 8, pp. 1052-1054, 2009.
- [19] Sáez, A. Solarte, J. Martínez, A. y Habeych, D., “Evaluación de un medio de cultivo a partir del fruto de *Prosopis juliflora*,” *Revista Universidad EAFIT*, vol. 40, pp. 9-17, 2004.
- [20] Mossel, D. Rees, M. Bonants, V. Laarhoven, A. Ligtenberg-Merk, T. y Werdle, M., “Quality assurance of selective culture media for bacteria, moulds and yeasts: an attempt at standardization at the international level,” *Journal of Applied Bacteriology*, vol. 54, pp. 313-327, 1983.
- [21] Domínguez, I. Mohali, S. Marín, M. y Pino, H., “Caracterización y variabilidad genética de *Colletotrichum gloeosporioides sensu lato* en plantaciones de palma aceitera (*Elaeis guineensis Jacq.*) en Venezuela,” *Tropical Plant Pathology*, vol. 37, pp. 108-122, 2012.
- [22] López, D. y López, M., “Influencia del pH y de los medios de cultivo en la expresión de los caracteres de valor diagnóstico de las especies del género *Fusarium* en Cuba,” *Revista de fitosanidad*, vol. 8, pp. 7-11, 2004.
- [23] Ávila, J. Ávila, M. y Tovar B., “Determinación de las condiciones de crecimiento in vitro de una cepa probiótica (*Lactobacillus delbruekii subsp. bulgaricus*) aislada del tracto intestinal de terneros (*Bos taurus*),” *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, vol. 1, pp. 058-069, 2010.
- [24] Pathak, M. y Martirosyan, D., “Optimization of an effective growth medium for culturing probiotic bacteria for applications in strict vegetarian food products,” *Functional Foods in Health and Disease*, vol. 2, pp. 369-378, 2012.
- [25] Alburqueque, T., “Efecto in vitro de temperaturas de 0°, 5°, 10°C, ambiental y corporal en medio ácido y neutro para *Pseudomonas aeruginosa*,” Tesis de Titulación, Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo, Perú, 2009.
- [26] Benítez, F. Huerta, G. y Holguín, F., “Efecto de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc. En la caída de Frutos de Mango (*Mangifera indica* L.) cv. Ataulfo en el Soconusco, Chiapas, México,” *Revista mexicana de fitopatología*, vol. 21, pp. 223-227, 2003.
- [27] Rocha, S. Queiroz, J. Lopes, Campo, F. y Ponheiro, H., “Antioxidant in mango (*Mangifera indica* L.) pulp,” *Plant foods hum nutr*, vol. 62, pp. 13-17, 2007.
- [28] Shah, K. Patel, M. Patel, R. y Parmar, P., “*Mangifera indica* (Mango),” *Phcog Rev*, vol. 4, pp. 42-48, 2010.
- [29] Sumaya, M. Sánchez, L. Torres, G. y García, D., “Red de valor del mango y sus desechos con base en las propiedades nutricionales y funcionales,” *Quinta época*, vol. 30, pp. 826-833, 2012.
- [30] Guzmán, O. Lemus, C. Bugarin, J. Bonilla, J. y Ly, J., “Composición y características químicas de mangos (*Mangifera indica* L.) destinados a la alimentación animal en Nayarit, México,” *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, vol. 47, pp. 273-277, 2013.
- [31] Orozco, M. Manzo, G. Guzmán, S. Farías, J. y Timmer, L., “Crecimiento y Cambios Morfológicos de *Colletotrichum acutatum* Simmonds, Agente Causal de la Antracnosis del Limón Mexicano (*Citrus aurantifolia* Christm. Swingle) Incubado en Diferentes Medios de Cultivo Sólidos y Líquidos,” *Revista mexicana de fitopatología*, vol. 22, pp. 423-428, 2004.
- [32] Furtado, A. Zamboni, A. y Bedendo, I., “Development of *Colletotrichum gloeosporioides* isolated from green pepper in different culture media, temperatures, and light regimes,” *Sci. agric. (Piracicaba, Braz.)*, vol. 61, pp. 542-544, 2004.
- [33] Pérez, L. y Vidal, I. “Aspectos de la biología de *colletotrichum musae* (berk. & curt.) v. arx y *fusarium pallidoroseum* (cooke) saccardo, agentes causales de la pudrición de la corona de los bananos (musa sp.) en cuba,” *Fitosanidad*, vol. 6, pp. 3-10, 2002.
- [34] Eng, F. Gutiérrez, M. y Favela, E., “Efecto de la temperatura y el pH en el crecimiento superficial de *Botryodiplodia theobromae* RC1,” *Rev. Iberoam Micol*, vol. 20, pp. 172-175, 2003.
- [35] Reyes, C. Bran, M. y Morales, O., “Evaluación del crecimiento micelial de cepas nativas de *Agrocybe cylindracea* (DC.:Fr) Maire, en diferentes medios de cultivo y pH,” *Revista científica*, vol. 21, pp. 56-61, 2011.
- [36] Pereira, G. Herrera, J. Machuca, A. y Sánchez, M., “Efecto del pH sobre el crecimiento in vitro de hongos ectomicorrízicos recolectados de plantaciones de *Pinus radiata*,” *Bosque*, vol. 28, pp. 215-219, 2007.
- [37] Vázquez, A. Santiago, G. y Estrada, A., “Influencia del pH en el crecimiento de quince cepas de hongos ectomicorrizógenos,” *Serie Botánica*, vol. 73, pp. 1-15, 2002.
- [38] Castrillón O. Bedoya O. y Montoya, D., “Efecto del pH sobre el crecimiento de microorganismos durante la etapa de maduración en pilas estáticas de compost,” *Producción + Limpia*, vol. 1, pp. 87-98, 2006.
- [39] Serrano, R. Martín, H. Casamayor, A. y Ariño, J., “Signaling Alkaline pH Stress in the Yeast *Saccharomyces cerevisiae* through the Wsc1 Cell Surface Sensor and the Slt2 MAPK Pathway,” *The journal of biological chemistry*, vol. 281, pp. 39785-39795, 2006.

[40] Vargas, L. Ponce, H. Fernández, I. Guzmán, A. Santos, M. y Basurto, J., "Complementos nutricionales para el rendimiento y nutrición del cultivo de melón con fertirriego y acolchado," *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, vol. 1, pp. 5-15, 2010.

[41] Narendranath, N. y Power, R., "Relationship between pH and Medium Dissolved Solids in Terms of Growth and Metabolism of *Lactobacilli* and *Saccharomyces cerevisiae* during Ethanol Production," *Applied and environmental microbiology*, vol. 71, pp. 2239-2243, 2006.

[42] Yalcin, S. y Ozbas, Z., "Effects of pH and temperature on growth and glycerol production kinetics of two indigenous wine strains of *Saccharomyces cerevisiae* from turkey," *Brazilian Journal of Microbiology*, vol. 39, pp. 325-332, 2008.

[43] Fakruddin, M. Abdul, M. Morshed, M. y Choudhury, N., "Analysis of key factors affecting ethanol production by *Saccharomyces cerevisiae* IFST-072011," *Biotechnology* vol. 11, pp. 248-252, 2012.

[44] Jansen, M. Veurink, J. Euverink, G. & Dijkhuizen L. (2003). Growth of the salt-tolerant yeast *Zygosaccharomyces rouxii* in microtiter plates: effects of NaCl, pH and temperature on growth and fusel alcohol production from branched-chain amino acids. *FEMS Yeast*, 3(3), 313-318.

[45] Sampaio, F. Alencar, C. Faveri, D. Perego, P. Converti, A. y Lopes, F., "Influence of temperature and pH on xylitol production from xylose by *Debaryomyces hansenii* UFV-170," *Process biochemistry*, vol. 41, pp. 675-681, 2006.

[46] Serra, A. Strehaiano, P y Taillandier, P., "Influence of temperature and pH on *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* growth; impact of a wine yeast interspecific hybridization on these parameters," *Int J Food Microbiol*, vol. 104, pp. 257-65, 2005.

[47] Uribe, L., "Caracterización fisiológica de levaduras aisladas de la filósfera de mora," Tesis de Titulación, Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia, 2007.